©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von *Majanthemum bifolium*

(Zur Kenntnis spezifischer Permeabilitätsreihen, I)

Von

Karl Höfler

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

(Mit 1 Textfigur)

(Vorgelegt in der Sitzung am 28. Juni 1934)

Inhalt:

Pagina

I. Einleitung 213
II. Zur Frage der Berechtigung der plasmolytischen Permeabilitätsbestimmung 216
III. Objekt und Methodik 223
IV. Versuche:
a) Harnstoff 228
b) Glyzerin 231
Reduktion der Permeationskonstanten auf die Oberflächeneinheit 233
c) Sulfoharnstoff 235
d) Metylharnstoff . 237
e) Dimethylharnstoff 238
f) Malonamid 239
g) Lactamid 241
h) Erythrit 242
i) Die Zucker 248
k) Neutralsalze 248
l) Wasser 249
V. Besprechung . . 250
a) Die *Majanthemum*-Reihe . 250
b) Vergleich mit *Chara ceratophylla* 251
c) Zur theoretischen Deutung 255
VI. Zusammenfassung 261
Literatur 262

I. Einleitung.

Ernst Overton hat als erster zahlreiche chemische Verbindungen auf ihr Vermögen, durch das lebende Protoplasma zu dringen, geprüft und sie nach der Geschwindigkeit des Durchtritts in Reihen gebracht. Er ist zur grundlegenden Erkenntnis gelangt, daß die verschiedenartigsten Plasmen, selbst solche pflanzlicher und tierischer Zellen, hinsichtlich ihrer Durchlässigkeit in wichtigen Grundzügen übereinstimmen. Seine klassische Permeabilitätsreihe galt ihm in gleicher Weise für alles Protoplasma. Die Einheitlichkeit aller lebenden Substanz in einer wichtigen physikochemischen Eigenschaft war damit erwiesen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Unwillkürlich standen die Forscher der folgenden Zeit so sehr unter dem Eindruck dieser bedeutsamen Entdeckung, daß beim weiteren Ausbau für jede Erkenntnis am einzelnen Objekt allgemeine Gültigkeit für alles Plasma gefordert wurde. Unterschiede im Permeabilitätsverhalten zwischen verschiedenen Protoplasten — auch Overton selbst hatte solche schon wahrgenommen — wurden daher weder gesucht noch, wenn sie zufällig aufstießen, besonders beachtet.

Erst in jüngerer Zeit wurde die Sache anders. Die Forderung nach quantitativer Bestimmung war allgemein anerkannt, als ich vor nun fast 14 Jahren vergleichende Permeabilitätsstudien auf breiter Grundlage in Angriff nahm. In den ersten Jahren wurde gemeinsam mit A. Stiegler das Permeiervermögen des Harnstoffs an zahlreichen Objekten aus allen Gruppen des Pflanzenreiches studiert. Dabei ergab sich an Stelle der erwarteten Einheitlichkeit stärkste quantitative Verschiedenheit. Beim selben Objekt erwies sich die Harnstoffdurchlässigkeit als im allgemeinen beständig innerhalb gewisser Grenzen. Bei verschiedenen Zellsorten schwankten die Werte im Verhältnis von 1 1000 und mehr.

Zu jener Zeit war die Permeabilität des Protoplasmas für Salze (besonders Fitting, 1915*f*) quantitativ schon am besten untersucht. Vergleichsweise Prüfung der Salzdurchlässigkeit ließ nun ähnlich große Unterschiede durchaus vermissen. Das Verhältnis der Harnstoff- zur KNO_3-Permeabilität erwies sich für verschiedene Plasmasorten sehr verschieden; es betrug, wie bei *Rhoeo* (Fitting, 1919), so auch bei *Tradescantia elongata* etwa 1 1, bei Stengelhautzellen von *Gentiana Sturmiana* aber etwa 170:1 (Höfler und Stiegler, 1921, p. 163). Damit war erstmalig ein größenordnungsmäßiger Unterschied im Verhältnis der Durchlässigkeit verschiedener pflanzlicher Protoplasmen für gegebene Stoffpaare erwiesen. — Ähnliche Unterschiede ergaben sich weiter auch im Permeiervermögen unschädlicher Nichtleiter. Der Rohrzucker permeiert bei *Majanthemum* etwa 80mal, bei *Gentiana* etwa 2500-mal langsamer als der Harnstoff. Und als wichtige Tatsache wurde bei Huber und Höfler (1930) gezeigt, daß die Wasser- und die Harnstoffdurchlässigkeit in ihrem Verhältnis sich bei verschiedenen Objekten durchaus nicht entsprechen. Der Begriff der »spezifischen Permeabilitätsreihen« (Höfler und Stiegler, 1930, p. 507) sollte derartige Differenzen allgemein erfassen. Wir verstanden darunter die quantitativen Verhältnisreihen von Permeabilitätswerten ein und desselben Plasmas für verschiedene gelöste Stoffe (Huber und Höfler, 1930, p. 499).

Als nun neuerdings die vergleichende Protoplasmaforschung aktuell wurde, da gab, zusammen mit Weber's (1929) Protoplasmatischer Anatomie und der von mir (1930*b* f.) versuchten protoplasmatischen Kennzeichnung der Pflanzenstämme, vor allem die vergleichende Permeabilitätsforschung den Anstoß. Der planmäßige Vergleich der Durchlässigkeitseigenschaften erschien berufen, die plasmatische Charakterisierung gegebener Zellsorten anzubahnen. Ja, wie ich bei meinen Versuchen (1932*a*, 1934*b*), Ziel und nächste

Aufgaben der vergleichenden Protoplasmatik darzulegen, schon hervorhob, verspricht unter den uns heute zu Gebote stehenden Methoden die Festlegung der spezifischen Permeabilitätsreihen geradezu das wichtigste und auch in quantitativer Hinsicht leistungsfähigste Mittel zur physikochemischen Kennzeichnung lebender Protoplasmen zu werden.

Von solchen vergleichend-protoplasmatischen Interessen geleitet, habe ich im Sommer 1931 die auf mehrere Jahre berechnete Versuchsreihe unternommen, deren erstes Glied diese Abhandlung ist.

Bei der Wahl der Objekte war mir das Verhalten gegenüber dem Harnstoff maßgebend. Ich setzte mir die Aufgabe, zunächst einmal ein für ihn hochdurchlässiges Objekt mit einem mittlerer und einem geringer Durchlässigkeit zu vergleichen und die Reihen festzulegen. Als hochpermeables Objekt wählte ich *Gentiana Sturmiana*, deren Reihe ich indes erst 1933 auf breiterer Grundlage bearbeiten konnte. Als Beispiel niederer Durchlässigkeit lag mir schon *Rhoeo discolor* und die von Bärlund (1929) dafür ermittelte Reihe vor. Als Vertreter mittlerer Harnstoffdurchlässigkeit wurde im Sommer 1931 als erste Versuchspflanze *Majanthemum bifolium* eingehend studiert. Meine damaligen Ergebnisse sind schon (1932 *b*, p. 63) in knapper, vorläufiger Form mitgeteilt worden. Die Reihe wurde dann 1933 in einigen wichtigen Punkten ergänzt und erweitert.

Neben ihrer vorzüglichen Eignung für die plasmometrische Untersuchung empfahlen sich die Stengelhypodermzellen von *Majanthemum* auch deshalb, weil ich mich mit diesem Objekt während sechs vorangegangener Sommer beschäftigt und dabei jene Materialkenntnis gewonnen hatte, die für ein erfolgreiches zellphysiologisches Arbeiten die Voraussetzung ist. Auch war mir hier die Wasserpermeabilität der Protoplaste (Höfler, 1930 *a*) schon genau bekannt. An der Einbeziehung der Wasserkonstanten in meine Reihen war mir aber vor allem gelegen.

Bezüglich der sonst zu untersuchenden Substanzen habe ich mir noch Beschränkung auferlegt und von solchen, die ich im plasmolytischen Totalversuch ohne Schädigung anwendbar fand, zunächst die Nichtleiter Glyzerin, Harnstoff, Methylharnstoff, Sulfoharnstoff, Laktamid, Malonamid, Erythrit und verschiedene Zuckerarten herangezogen; die Wahl war durch Collander's und Bärlund's (1926, 1929) und Höber's Erfahrungen wesentlich mitbestimmt. Dafür schwebte mir als Ziel vor, die physiologische Wirkung jeder einzelnen Verbindung auf das Protoplasma und die Resistenz der Versuchszellen für jede aufs genaueste kennenzulernen. Durch L. Hofmeister's seither ausgearbeitete Partialmethode wird die Reihe der plasmometrisch anwendbaren Substanzen wesentlich erweitert.

Um meine Resultate mit den Ergebnissen anderer Permeabilitätsforscher (Collander und Bärlund, 1933, Wilbrandt, 1931, von Zoologen vor allem Höber, Jacobs und ihre Mitarbeiter) — auf deren Arbeiten wir im Schlußkapitel zurückkommen — auch

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

quantitativ vergleichbar zu machen, erscheint endlich die Umrechnung der Konstanten auf die Oberflächeneinheit der durchdrungenen Membranen (siehe unten p. 226 und 233) geboten.

II. Zur Frage der Berechtigung der plasmolytischen Permeabilitäsbestimmung.

Meine folgenden Versuche sind nach der plasmometrischen Methode ausgeführt worden.

Der größte Teil unserer Kenntnisse über die Permeabilität pflanzlicher Zellen stützt sich auf die Ergebnisse plasmolytischer Untersuchungen. Gegen die Anwendung der osmotischen und zumal der plasmolytischen Methoden sind aber in den letzten Jahren starke Bedenken erhoben worden. Es obliegt mir daher die Aufgabe, zu diesen hier ausführlich Stellung zu nehmen, ehe ich darangehe, neue plasmometrische Versuche im Dienst einer besonders wichtigen Problemstellung mitzuteilen, — auf die Gefahr hin, daß der mehr gegenständlich als methodisch interessierte Leser den folgenden Abschnitt als Fremdkörper in der Arbeit empfinde.

Weber (1931 *a, b,* 1932 *b, c, d, e*) hat in einer Reihe wichtiger Abhandlungen die schädigenden Wirkungen der Plasmolyse auf pflanzliche Zellen untersucht. Er stellt für die Plasmolyseresistenz ein allgemeines Prinzip auf, welches besagt: Je schwerer der Protoplast sich plasmolytisch von der Zellwand löst, desto mehr schädigt der plasmolytische Eingriff. Je größer also das Haftvermögen, desto kleiner die Plasmolyseresistenz. Ich habe in langjähriger Versuchspraktik bei der Wahl der Objekte für Permeabilitätsstudien schon immer solche, die »leicht« plasmolysieren, bevorzugt und kann aus meinen Erfahrungen Weber's Grundsatz voll bestätigen. Derselbe dürfte freilich nicht so verstanden werden, daß jede anfangs konkav oder krampfartig einsetzende Plasmolyse darum schon schädigend wirken muß; bei vielen Zellsorten plasmolysieren die Protoplaste stets zuerst konkav, gelangen aber nachher zur Rundung und überdauern die Plasmolyse ohne Schaden. Bei den *Majanthemum*-Zellen vollzieht sich nun aber die plasmolytische Löslösung von der Zellwand, zumal an gewässerten Schnitten leicht, und die konvexe Rundung kommt nachher rasch zustande. Darauf beruht ja die vorzügliche Eignung der Zellen zur Messung der Eintrittsgeschwindigkeit und Wasserpermeabilität, da viele Protoplaste schon während der hier sehr langsam erfolgenden Volumkontraktion konvex-meßbare Formen haben (Höfler, 1930). *Majanthemum* ist auch vom Standpunkte des Weber'schen Prinzips ein bevorzugt günstiges Objekt für plasmolytische Permeabilitätsstudien.

Für *Spirogyra,* die mit 2 GM Harnstoff behandelt wurde, hat Weber (1931 *a, b*) gezeigt, »daß die »Plasmolysepermeabilität« (d. i. die Permeabilität in plasmolysierenden hypertonischen Lösungen)

gegenüber der »Normalpermeabilität« (d. i. der Permeabilität in nicht plasmolysierenden hypotonischen Lösungen) pathologisch erhöht ist. Diese Erhöhung der Permeabilität ist (ceteris paribus) um so stärker, je »schwerer« die Zellen plasmolysieren.« Für Blattzellen von *Elodea* (1932 *b*) wird die Plasmolysepermeabilität in 2 GM Harnstoff durch niedere Temperatur stark erhöht. Gallensalze (1932 *d*) dringen, in Kombination mit hypertonischer Neutralsalzlösung geboten, viel rascher in die Protoplaste ein und üben stärkere cytolytische Wirkung. KCNS-Lösungen bewirken nach Strugger (1932) bei *Allium*-Zellen erst von der Grenzplasmolyse aufwärts eine Erhöhung der Durchlässigkeit der äußeren Plasmagrenzschicht, die mit zunehmender Hypertonie rasch ansteigt. Weber nimmt an (1932 *d*), daß »demnach bei der Plasmolyse nicht die »Normalpermeabilität« zur Beobachtung käme, sondern eine mehr oder weniger weitgehend veränderte (oft pathologisch erhöhte) »Plasmolysepermeabilität«. Wenn dieser Einwand in der von Weber erhobenen Allgemeinheit zutrifft, dann »bedürfen alle Aussagen über die Permeabilität der Pflanzenzellen, die sich auf Ergebnisse plasmolytischer Versuche stützen, dringend einer Revision.«

Zu dieser Gegenüberstellung muß vor allem darauf hingewiesen werden, daß sicherlich nicht jede »Plasmolysepermeabilität« pathologisch erhöht ist. Weber's Beobachtungen beziehen sich auf Zellen, die nach der Plasmolyse alsbald oder binnen beschränkter Zeit abstarben — sei es infolge von Giftwirkung der gebotenen Stoffe (Gallensalze; speziell auf Spirogyren wirkt, wie schon De Vries (1889) bekannt war, auch Harnstoff meist ausgesprochen giftig), sei es durch mechanische Schädigung bei jäh ausgeführter Krampfplasmolyse in übermäßig stark hypertonischer Lösung. Alle derartigen Fälle müssen bei Permeabilitätsstudien sorgsam ausgeschaltet werden. Das habe ich auch immer schon getan. Denn im prämortalen Stadium besteht ja stets die Möglichkeit einer pathologischen Erhöhung der Plasmadurchlässigkeit. Im plasmolytischen Dauerversuch zeigt sich sehr oft die prämortale Permeabilität im Vergleich mit den vorherigen Intervallen mit aller Deutlichkeit stark erhöht. Im übrigen kommen »Krampfplasmolysen«, bei denen nachher die Konvexrundung des Protoplasten nicht mehr zustande kommt, für plasmometrische Versuche an sich nicht in Betracht.

Die meisten der von Weber geschilderten Versuche hätten daher zur Täuschung nicht Anlaß geben können. Es ist eben ein Unterschied, ob man plasmolytische Methoden in möglichst schonender Form anwendet, wie es beim Permeabilitätsstudium geschieht, oder ob man Schädigungen möglichst kraß sichtbar machen will, wie es das Resistenzstudium mit sich bringt. So behandelt beispielsweise Weber *Spirogyra*-Zellen mit Harnstofflösungen von 2 GM, während ich für Spirogyren (deren osmotischer Wert bei 0·3 bis 0·4 Zucker liegt), im Permeabilitätsversuch höchstens Konzentrationen von 0·7 bis 0·8 Harnstoff verwenden würde.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Jähe Plasmolyse schädigt aber bekanntlich viel stärker als schwache; in hohe Konzentrationen, wenn man sie braucht, müssen die Zellen stets stufenweise überführt werden (Höfler, 1918 *a*, Kemmer, 1928, El Derry, 1929, Albach, 1930 u. a.)

Als grundsätzlich wichtiges Ergebnis für alle experimentelle Zellforschung glaube ich aus Weber's Studien den Satz festhalten zu dürfen, daß giftig wirkende Substanzen die Protoplaste bei Plasmolyse rascher und stärker schädigen als im unplasmolysierten Zustand. Mit diesem Satz wird auch die plasmolytische Permeabilitätsforschung stets zu rechnen haben.

Hingegen besteht meines Erachtens kein Grund, den Verdacht auf ungiftige Plasmolytika auszudehnen. Dies gilt ebenso wie für nicht oder schwach permeierende Substanzen (Zucker) auch für rascher permeierende (Harnstoff, Glyzerin, Malonamid), wofern in ihnen die behandelten Zellen stunden- oder tagelang am Leben bleiben und gleichmäßige Wiederausdehnung und dazu aktive Plasmaverlagerungen, wie Systrophe und deren Auflösungsbilder, (Küster, 1929, S. 72, Germ, 1932/33) zeigen.

Wenn also Weber's »Plasmolysepermeabilität« ein gekürzter Ausdruck für Permeabilität im plasmolysierten Zustande ist und im Gegensatz dazu »Normalpermeabilität« diejenige im nichtplasmolysierten Zustand bedeutet, so vermag ich diese Termini anzunehmen. Soll aber »Plasmolysepermeabilität« von vornherein die Vorstellung pathologisch veränderter, speziell pathologisch erhöhter Permeabilität beinhalten, so muß ich den Begriff ablehnen.

Ich habe vor kurzem (1931, 1932 *a*, 1934 *a*) die Notwendigkeit betont, zwischen Eintritt gelöster Stoffe ins Cytoplasma und Durchtritt bis in den Zellsaft zu unterscheiden. Ich sprach im ersten Fall von Intrabilität, in letzterem von Permeabilität des Protoplasmas. Ohne auf das Hautschichtenproblem (vgl. Plowe, 1931, Gicklhorn, Weber, 1932 *a*, *c*, *d*, Höfler, 1932 *a*, Strugger, 1932, Mothes, 1933) hier näher einzugehen, will ich doch kurz darauf verweisen, daß es sich bei der verstärkten Wirkung von Giften bei Plasmolyse, die wir aus Weber's Studien kennenlernten, primär meist oder immer um eine Erhöhung der Intrabilität handelt. Es ist ja klar, daß die Alterierung der äußeren Plasmagrenzschicht, des »Plasmalemma«, durch die Plasmolyse primär den Eintritt der gebotenen Stoffe ins Plasma erleichtert. Erst wenn das ganze plasmatische System alteriert ist, kann dann sekundär auch die Permeabilität im engeren Sinne erhöht werden.

Daß nun durchaus nicht immer im plasmolysierten Zustand die Permeabilität verändert ist, das beweisen ja auch schon die in der Literatur vorliegenden quantitativen Vergleichsversuche.

Lepeschkin (1909), der als erster volumetrische Permeabilitätsmessungen an plasmolysierten Protoplasten anstellte, hat schon

gefunden, daß der Durchtritt von Glyzerin bei Spirogyren im plasmolysierten und unplasmolysierten Zustande gleich schnell erfolgte.

Fitting (1915) hat dann in seiner bekannten Untersuchung dargetan, daß *Rhoeo*-Zellen im Reihenversuch Salze aus hypotonischen und plasmolysierenden Lösungen annähernd gleich schnell aufnehmen. Sein Nachweis bezieht sich, was gelegentlich übersehen wurde, nicht bloß auf Grenzplasmolyse, sondern auch auf stärkere Plasmolysegrade, denen die oberen Glieder seiner Schnittreihen im Beginn der Versuche ausgesetzt waren.

Collander und Bärlund konnten bei *Rhoeo* auch für Nichtleiter gleiche Permeabilität mit und ohne Plasmolyse feststellen; vgl. besonders Bärlund (1929).

Schon aus diesen Versuchen folgt, daß nicht jede »Plasmolysepermeabilität« gegenüber der Normalpermeabilität verändert ist.

Es gilt also nicht, die Anwendung plasmolytischer Methoden beim Permeabilitätsstudium überhaupt zu vermeiden, sondern unser Ziel muß sein, die pathologischen Wirkungen der Plasmolyse und überhaupt Veränderungen der Permeabilität durch dieselbe auszuschalten. Wir müssen normal verbliebene und sekundär veränderte Permeabilität am plasmolysierten Protoplasten unterscheiden lernen.

I. Bei der plasmolytischen Untersuchung erscheint in erster Linie die Gefahr einer Permeabilitätserhöhung gegeben.

Erhöhung, die erst nach gewisser Dauer der Plasmolyse eintritt, wird, wie erwähnt, plasmometrisch aus dem zeitlichen Verlauf der Wiederausdehnung erkannt. Daß vor dem Tode die Durchlässigkeit ansteigt, ist allgemein bekannt. In der Mehrzahl der Fälle erfolgt der Anstieg allmählich. Ich besitze dafür auch ein reiches plasmometrisches Belegmaterial (vgl. von veröffentlichten Versuchen z. B. Höfler, 1919 und besonders Höfler und Weber, 1926). Man erkennt das prämortale Stadium sehr oft schon daran, daß die Ausdehnungsgeschwindigkeit und Durchlässigkeit der Protoplaste stetig zunimmt.[1] Wogegen im vorherigen intakten Stadium die Durchlässigkeit sich in aufeinanderfolgenden Zeitabschnitten auf gleicher Höhe hält. Der Nachweis, daß dies der Fall ist, ist also ein wichtiges Kriterium für die Brauchbarkeit der gewonnenen Werte.

Zumindest in vielen Fällen treten gleichzeitig mit oder vor oder alsbald nach der Erhöhung auch sichtbare Veränderungen im Protoplasten auf, die der erfahrene Zellphysiologe mikroskopisch erkennt. Die Individualauslese und Kritik der gewählten Protoplaste hat dann die Verwendung solcher Zellen auszuschließen.

Eine wirkliche Gefahr können dagegen jene Fälle bedeuten, wo Zellen im plasmolysierten Zustand eine erhöhte Permeabilität

[1] So ließ sich z. B. die reversibel gesteigerte Permeabilität des Plasmas für Harnstoff bei der Narkose durch die Einstellung auf ein neues, erhöhtes Gleichgewicht kennzeichnen und von prämortaler, stetig ansteigender Permeabilität unterscheiden (Höfler und Weber, 1926, p. 679.)

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

für die gebotenen Stoffe besitzen und trotzdem noch »normal« aussehen und weiterleben.[1] Auf solche Fälle hat sich die Kritik der plasmolytischen Methoden und der damit gewonnenen Werte zu richten. Sie dürften in gewissen Plasmolyticis vorkommen und bleiben näher zu untersuchen. L. Hofmeister's vor der Veröffentlichung stehende Arbeit bringt wichtige Beiträge in dieser Richtung.

Theoretisch erscheint es ja ganz plausibel, daß allgemein bei der Loslösung die äußere Plasmagrenzschicht verletzt und ihr Diffusionswiderstand vermindert wird und daß die dadurch gesteigerte Permeabilität des Protoplasten sich dann im plasmolysierten Zustand dauernd auf gleicher Höhe hält. Gerade dieser fiktive Fall ist aber in der Literatur bisher wohl nicht belegt.

Wahrscheinlicher ist eine gewisse Permeabilitätserhöhung beim ersten Beginn der Plasmolyse (Weber) — oder während der Kontraktion (Scarth, 1926) —, die sich nachher mit der Wiederherstellung des alterierten »Plasmalemma« —, respektive mit dem osmotischen Gleichgewicht — wieder ausgleicht (vgl. besonders Weber, 1932 *c*). Solche Vorgänge blieben indes (selbst wenn die erste Losreißung nicht nur zu einer Erhöhung der »Intrabilität«, sondern auch zu einer nennenswerten Steigerung der »Permeabilität« führen sollte), doch für die plasmometrische Bestimmung des Durchtritts gelöster Stoffe bedeutungslos. Denn wir bestimmen ja plasmometrisch nur die Stoffaufnahme während der Rückdehnung, die erst nach Erreichung des osmotischen Gleichgewichtes beginnt, und verzichten grundsätzlich auf alle indirekten Schlüsse aus dem Vergleich osmotischer Zellwerte in der endosmierenden Lösung und in Vergleichslösungen, wie Rohrzucker, also auf jegliche Anwendung der Methode »isotonischer Koeffizienten«. Der einzige Fehler, welchen vorübergehende Permeabilitätssteigerung in der Initialphase der Plasmolyse bewirken könnte, bezöge sich auf die Berechnung der Permeabilitätskonstanten P' aus den Aufnahmewerten M (vgl. unten p. 226), denn dabei würde die Innenkonzentration des Endosmotikums etwas zu klein angenommen.

II. Daneben kommt aber noch eine zweite Art der Veränderung in Frage, nämlich eine Permeabilitätsverminderung der Protoplaste[2] im plasmolysierten Zustand.

Bedeutsam ist hier vor allem eine Bemerkung De Vries', des Begründers der Permeabilitätsforschung, wonach »die Permeabilität (für Glyzerin) im plasmolytischen Zustande allem Anschein nach geringer ist als vor der Plasmolyse« (1888, p. 252, 1918, Bd. II, p. 496).

---

[1] Die von Weber studierten Beispiele gehören größtenteils insoferne nicht hieher, weil dort Plasmaveränderungen sichtbar werden und bald nachher der Zelltod eintritt.

[2] Theoretisch ließe sich vorstellen, daß das Plasma an seiner Berührungsfläche gegen die Lösungen neues Plasmalemma bildet oder das alte so verändert, daß es stärkeren Diffusionswiderstand besitzt als das ursprüngliche.

Nach einer zweiten Vorstellung könnte Entquellung des Plasmas bei der Plasmolyse dessen Permeabilität herabsetzen.

Im gleichen Sinne äußert sich Ruhland (1915) bezüglich der Salzaufnahme von *Statice* (vgl. dazu Fitting, 1917, p. 553).

In jüngster Zeit sind nun Huber und Schmidt darangegangen, planmäßig die Permeabilität von Pflanzenzellen gegenüber verschiedenen Stoffen mit und ohne Plasmolyse vergleichend zu untersuchen, um zu prüfen, ob ein Einfluß der Plasmolyse besteht und »insbesondere ob er die bisherigen Angaben quantitativ oder grundsätzlich modifiziert«. Die genannten Autoren bringen gleiche Schnitthälften einerseits in eine noch hypotonische Konzentration des zu prüfenden Stoffes, z. B. in 0·40 GM Harnstoff, anderseits in eine kombinierte, plasmolysierende Lösung vom Harnstoff nnd Zucker, von z. B. 0·80 GM (0·40 Harnstoff + 0·40 Traubenzucker); am Schluß jedes Versuches wird als Maß des Eindringens der osmotische Wertanstieg beider Schnitte in Zucker plasmometrisch bestimmt. Huber und Schmidt (1933) bestätigen in ihrer 1. Mitteilung die Befunde von Fitting[1] und Bärlund, wonach bei *Rhoeo* in der Permeabilität für Glyzerin und Harnstoff mit und ohne Plasmolyse keine nennenswerten Unterschiede bestehen. Dagegen »blieb bereits bei *Majanthemum* der Anstieg des osmotischen Wertes der *B*-Schnitte in fast allen Harnstoff- und Glyzerinversuchen schwach, aber eindeutig unter dem der *A*-Schnitte«. Und sehr auffällig war der hemmende Einfluß der plasmolysierenden Harnstoffzuckerlösung bei Zellen der Stengelepidermis von *Gentiana macrophylla*.

Ich besitze in meinem Material über Harnstoffpermeabilität zahlreiche Versuche, worin nach anfänglicher Ausdehnung allmählich oder mehr minder unvermittelt Stillstand der Protoplaste eintritt. Solche Permeabilitätshemmung ist nun bei plasmolytischen Studien viel weniger leicht auszuschalten als die pathologische Erhöhung. Denn gehemmte Protoplaste können lange Zeit weiterleben, die Hemmung gehört nicht der prämortalen Phase an. In meinen Versuchen stehen den erwähnten Fällen sehr viele andere gegenüber, wo die Rückdehnung durch Stunden, ja Tage stetig erfolgt. Und nur solche Objekte, wo dies (zunächst im Harnstoffversuch) zutrifft, verwende ich für spezielle Studien. Zu diesen zählt aber das Objekt dieser Arbeit, die Zellen des Stengelhypoderms von *Majanthemum*.

Doch bliebe eine weitere Möglichkeit. Tritt hier auch eine sekundäre Hemmung der Rückdehnung nicht auf, so könnte doch die Permeabilität durch die Plasmolyse schon vor dem Beginn der Messungen herabgesetzt worden sein, sich nachher aber stationär erhalten.

Es ist nun sehr willkommen, daß Huber und Schmidt an den *Majanthemum*-Zellen bereits direkte Vergleichsversuche durchgeführt haben. Sie fanden, wie erwähnt, schwächeren Anstieg der osmotischen Werte in den plasmolysierten *B*-Schnitten; »der Unter-

[1] Der hemmende Einfluß der Salze auf die Durchlässigkeit ist, wie schon Fitting (1915) gezeigt hat, nicht an den Plasmolysezustand gebunden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

schied beträgt im allgemeinen etwa 10 bis 15%, ist daher nur im strengen Vergleichsversuch nachweisbar und bleibt weit innerhalb der bei mehreren Versuchen üblichen individuellen Schwankung« (1933, p. 205).

Den ausführlich mitgeteilten Versuchen in der Staatsexamensarbeit von H. Schmidt, in die mir der Einblick gewährt wurde,[1] kann ich folgende Zahlen entnehmen. Die *A*-Schnitte verweilten in hypotonischer Lösung (0·4 GM Harnstoff, 0·38 GM Glyzerin), die *B*-Schnitte in plasmolysierender Mischlösung (0·4 GM Harnstoff + 0·4 GM Rohrzucker); nach 80 Minuten (Harnstoff), respektive 12 Stunden (Glyzerin) wurde der osmotische Wertanstieg gegenüber anfangs gemessenen Kontrollen in 0·7 GM Rohrzucker bestimmt. Die Hemmung der *B*-Schnitte ist in den folgenden Versuchen relativ stark. Es waren bis zur 1. Messung eingedrungen:

	A-Schnitte	*B*-Schnitte	Mehraufnahme der unplasmolysierten *A*-Schnitte
m (Min.-Wert) in GM Harnstoff	0·000876	0·000600	46%
	0·000345	0·000289	19½%
m (Min.-Wert) in GM Glyzerin	0·000205	0·000168	22%
		Mittel	29%

Darf man nun aus dieser Hemmung der Aufnahme in den plasmolysierten Schnitten auf eine Hemmung der Plasmapermeabilität schließen? Folgendes ist dabei zu bedenken.

In den unplasmolysierten *A*-Schnitten waren die Volumina der Protoplaste während der Endosmose größer als in den plasmolysierten *B*-Schnitten. Bei der Plasmolyse in 0·7 GM Zucker verkleinern sich die *A*-Protoplaste auf etwa 0·7 des entspannten Zellvolumens (O lag um 0·5 GM., $G = O/C$). Dabei wird das Lösungsvolumen des Zellsaftes eingeengt, also die Konzentration des zuvor endosmierten Harnstoffes, respektive Glyzerins im Verhältnis 10 7 erhöht. Die Substanzen sind also in den *A*-Protoplasten jetzt in höherer Konzentration vorhanden als vorher, während die *B*-Protoplaste schon während der Endosmose im gleichen Grad plasmolysiert waren. Wenn nun vorher gleiche Lösungsmengen (in GM/dm^3) in die *A*- und *B*-Protoplaste gedrungen sind, so haben die größeren *A*-Protoplaste doch größere Gewichtsmengen (in g) aufgenommen. Wenn dann beide Schnitte zur Wertung in hypertonischer Zuckerlösung plasmolysiert werden, so wird in *A* auch der Harnstoff eingeengt und auf höhere Konzentration gebracht, in *B* dagegen nicht. Nun ergibt sich stärkerer osmotischer Wertanstieg in den *A*-Schnitten, entsprechend der größeren aufgenommenen Harnstoffmenge. Auf eine erhöhte Permeabilität der unplasmolysierten *A*-Protoplaste darf man daraus aber nicht schließen. Sondern die Mehraufnahme der *A*-Zellen von im Mittel 29% (bezogen auf $B = 1·0$) stimmt innerhalb der Versuchsgrenzen aufs beste zur Annahme einer gleichen Permeabilität der *A*- und *B*-Zellen. (Die *A*-Zellen bleiben bei Berücksichtigung des Volumverhältnisses sogar noch ein wenig zurück.)

Vereinfacht ließe sich auch sagen: Die stündliche Stoffaufnahme bei unplasmolysierten Zellen aus gleicher Außenkonzentration (z. B. 0·40 GM Harnstoff) ist größer als die der plasmolysierten. Zieht man aber die ungleich großen Oberflächen in Betracht (die in den gestreckt zylindrischen Zellen den Inhalten annähernd proportional sind) und reduziert die Werte auf die Flächeneinheit, dann verschwinden die Unterschiede.

---

[1] Die Arbeit ist jetzt in der Bibliothek der Technischen Hochschule zu Darmstadt dem Leihverkehr zugänglich.

Ich entnehme also den Versuchen von Huber und Schmidt, daß auch bei *Majanthemum* — wie bei *Rhoeo* — die Permeabilität im plasmolysierten Zustand praktisch gleich groß ist wie im unplasmolysierten. Dies gilt zunächst für die zwei unschädlichen Substanzen Harnstoff und Glyzerin.

Zusammenfassend läßt sich festhalten: Plasmolyse kann die Permeabilität in zweierlei Sinne beeinflussen, sie kann sie erstens erhöhen oder zweitens herabsetzen. Auf beide Möglichkeiten muß bei Permeabilitätsversuchen geachtet werden. Außerdem wird aber drittens in vielen Fällen die Permeabilität (für unschädliche Stoffe) durch Plasmolyse nicht oder fast nicht verändert. Dann liefert die plasmolysische Untersuchung gültige Werte. Die *Majanthemum*-Zellen gehören, soweit bekannt, diesem Typus an.

III. Objekt und Methodik.

Für die plasmometrische Messung kommen nur einfach geformte Zellen mit regelmäßig geformten, meßbaren Protoplasten in Betracht. Während konvexer Plasmolyseintritt, wie man ihn zur Bestimmung der Wasserpermeabilität braucht, selten ist, genügt es für die der Permeation gelöster Stoffe, daß die Protoplaste sich bei Endplasmolyse halbkugelig runden und während der Rückdehnung die Konvexform beibehalten, was bei sehr zahlreichen Objekten der Fall ist. Die Mehrzahl aller zylindischen Zellen ist daher im Prinzip für plasmometrische Bestimmung geeignet und für vergleichend protoplasmatische Zwecke liegt der Ermittlung spezifischer Permeabilitätsreihen ein weites Feld offen.

Die *Majanthemum*-Zellen, das Objekt der folgenden Versuche, bieten gleichwohl einige besondere Vorteile; als solche sind zu nennen: 1. konvexer Plasmolyseeintritt und Meßbarkeit auch der Wasserpermeabilität, 2. gute Plasmolyseresistenz, 3. bequeme Größe und 4. leichte Wiederauffindbarkeit der Zellen.

Ich verwende wie früher (1926, 1930) die subepidermalen Parenchymzellen (»Hypodermzellen«)[1] vom basalen Stengelteil abgeblühter oder fruchtender Pflänzchen. Man erkennt am unteren Teil der Stengel schon mit freiem Auge eine zarte, rote Sprenkelung, die von anthokyanhältigen Zellen herrührt, welche zwischen den farblosen Nachbarn in unterbrochenen Längsreihen oder regellosen Gruppen eingestreut sind. Die meisten dieser Zellen sind tiefrot, manche dunkellila, einzelne hellila. Das Wiederfinden der gemessenen Zellen — zumal für den Anfänger eine Hauptschwierigkeit beim plasmometrischen Arbeiten — gelingt hier an Hand kleiner Skizzen leicht und sicher auf den ersten Blick. Auch die farblosen Protoplaste sind meßbar, sie erweisen sich in den meisten Fällen von den gefärbten im Permeabilitätsverhalten nicht verschieden.

Will man normale Durchlässigkeitswerte messen, so müssen die Flächenschnitte so dick sein, daß sie unter der Hypodermschicht zumindest noch eine

[1] Die Bezeichnung ist anatomisch insofern nicht ganz berechtigt, als die Zellen der äußersten Parenchymlage von den tieferen Schichten morphologisch nicht verschieden sind, also kein differenziertes, eigentliches Hypoderm bilden. Die subepidermale Schicht ist bloß dadurch ausgezeichnet, daß rote Zellen nur allein in ihr vorkommen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

lebende Zellage enthalten. Denn an die Schnittfläche grenzende Zellen zeigen, wenn sie auch dauernd am Leben bleiben, oft eine Hemmung der Permeabilität. Diese ist am stärksten bei Randzellen, tritt aber, wenngleich seltener und in schwächerem Maße, auch bei an die Innenschnittfläche grenzenden Flächenzellen auf. Noch auffälliger als bei *Majanthemum* ist diese Wundhemmung bei *Gentiana* (vgl. Höfler und Stiegler, 1930, p. 384) und vielen anderen Objekten (Hurch, 1933). Huber und Schmidt (1933) weisen die Hemmung auch an unplasmolysierten Zellen nach. Sie ist bei *Gentiana* die gefährlichste Fehlerquelle bei Vergleichsversuchen. Doch genügt nach älteren Erfahrungen die Zwischenschaltung einer lebenden Schicht, sie auszuschließen.

In dickeren Schnitten stört die Interzellularluft die Beobachtung und scharfe Einstellung der Protoplasten-Menisci. Sie muß bei *Majanthemum* vor den Versuchen entfernt werden. Dies geschah mit Hilfe einer Handluftpumpe. Während aber bei Eintrittsversuchen (Höfler, 1930, p. 304) die Präparate vollständig entlüftet werden mußten, empfiehlt es sich bei Dauerversuchen, nur teilweise, soweit eben zur Beobachtung nötig, zu entlüften. Sollen Schnitte in Zucker, Erythrit usw. durch mehrere Tage beobachtet werden, so ließ ich absichtlich mehr Luft zurück, da diese die Zellen in den Lösungen vor *O*-Mangel schützt und sie anscheinend länger intakt erhält.

Vor den Versuchen wurden die Präparate gewässert, und zwar meist 1—2 (—5) Stunden lang. Das Wässern begünstigt, wie bekannt, die folgende Abrundung und macht die Zellen durch Verminderung der Adhäsionswiderstände (Weber, 1921, 1924) auch resistenter gegen die Plasmolyse. Derart kurze Wässerung beeinflußt die folgende Permeabilität nicht oder nicht wesentlich. Hingegen scheint lange Wässerung (von z. B. 24 Stunden), die oft zu idealer Rundung beim Eintritt führt, nach orientierenden Beobachtungen in Harnstoff die Permeabilität bisweilen deutlich herabzusetzen (vgl. auch Albach, 1930); sie mußte daher vermieden werden.

Für strenge Vergleichsversuche habe ich stets Schnitthälften verwendet, die ich aus einem Präparat durch schrägen Querschnitt mit scharfem Rasiermesser auf wassergetränktem Holundermark als Unterlage (nicht mit dem Scherchen!) anfertigte. Nötigenfalls wurden drei, ausnahmsweise bis vier solche Schwesterschnitte hergestellt. Die Präparate sollen aber am Stengel nicht höher als etwa 20 *mm* vom Rand des scheidenförmigen Niederblattes hinaufreichen, wenn auch die Sprenkelung höher reicht, denn die Zellen höher oben sind so langgestreckt, daß sich die meisten Protoplaste bei der Plasmolyse in Stücke teilen, was die Messung unliebsam erschwert. Schnitte von verschiedenen Stengelflanken desselben Stämmchens hielt ich nicht für streng vergleichar. — Wo es auf strenge Vergleichbarkeit ankommt, verwendete ich in verschiedenen Lösungen rote Zellen desselben Längszuges, die jederseits nur 1 bis 3 *mm* vom queren Schnittrand, also in natürlicher Lage nicht mehr als 2 bis 5 *mm* entfernt gewesen waren.

Was die Vergleichbarkeit verschiedener Versuchsreihen betrifft, so war das Material insoferne einheitlich, als alle Pflänzchen vom gleichen Standort, einem lichten, feuchten Fichtenwald in der Ramsau bei Schladming (Seehöhe 1100 *m*), aus nächster Nähe des Arbeitsraumes stammten und in den verschiedenen Jahren im Spätsommer (20. August bis etwa 20. September) untersucht wurden. Vergilbende Pflänzchen schloß ich sorgsam aus. So streng vergleichbar wie Schwesterschnitte sind Präparate von verschiedenen Pflanzen aber natürlich nicht.

Was die Außenfaktoren betrifft, so liegt ein Hauptmangel meiner Versuche in der ungleichen Temperatur an den verschiedenen Tagen. Doch habe ich mit Absicht die Versuche immer bei der natürlichen Temperatur, die gleichzeitig im Freien herrschte (meist bei offener Balkontür), durchgeführt (Tage kühlerer Temperatur (11 bis 14° C) wurden für die Hauptversuche bevorzugt). Die Einzelwerte gewinnen dadurch sehr an Wert. Ich habe nämlich vielfach Grund gefunden zu argwöhnen, daß Temperaturübertragung (beim Überbringen ins warme Zimmer) die Permeabilität wesentlich beeinflußt: Nicht nur die jeweils herrschende Temperatur, sondern auch die thermische Vorgeschichte scheint für das Permeationsverhalten des Plasmas von Einfluß zu sein. Solange wir aber darüber nichts Näheres wissen, ist auch jede Temperaturkorrektur nach vorausbestimmten Koeffizienten höchst bedenklich; ich verzichte daher grundsätzlich auf solche. Ganz streng vergleichbar sind freilich nur die zu gleicher Zeit an Schwesterschnitten in verschiedenen Lösungen vorgenom-

menen Messungen. Bei den Dauerversuchen war die Temparatur nachts kleinen Schwankungen unterworfen, da die Fläschchen gegen Abkühlung nur teilweise geschützt waren und ein Thermostat bisher leider nicht verwendet wurde.

Die Lösungen wurden volumnormal in Meßkölbchen mit sauberem, zweifach destilliertem H_2O hergestellt. Das 1933 verwendete Wasser war zum zweitenmal aus Quarzvorlage destilliert. Die plasmolysierten Agentien waren von Merck (Glyzerin, Harnstoff, Sulfoharnstoff, Erythrit, die Zucker, Malonamid zum Teil), Schering-Kahlbaum (Methylharnstoff, Dimethylharnstoff, Malonamid zum Teil) oder Schuchard (Lactamid) bezogen.

Nach jeder Beobachtung kamen die Schnitte zurück ins Fläschchen.

Die Messungen erfolgten nach der plasmometrischen Methode in der bekannten Art (Höfler, 1918 *a*, *b*; Höfler und Weber, 1926; Höfler und Stiegler, 1930):

Aus dem Volumverhältnis zwischen plasmolysierten Protoplasten (V_p) und Innenraum der entspannten Zelle (V_z) ergibt sich der Plasmolysegrad

$$G = V_p/V_z \tag{1}$$

Für zylindrische Zellen wird

$$G = \frac{l - \frac{b}{3}}{l}, \tag{2}$$

wo l die Länge des Protoplasten, l die mittlere innere Zellänge, b die Breite der Zelle ist. Besteht osmotisches Gleichgewicht zwischen Zellsaft und Lösung, so berechnet sich der osmotische Zellwert nach der Gleichung

$$O = C.G, \tag{3}$$

C die Konzentration des Plasmolytikums in GM.

Wenn in permeierender Lösung die Plasmolyse wieder zurückgeht, so läßt sich aus der Volumzunahme des Protoplasten und der zeitlichen Änderung der Maßzahl des Plasmolysegrades $G_2 - G_1$ die aus dem Plasmolytikum eingedrungene Substanzmenge ermitteln und daraus die Permeabilität des Protoplasten bestimmen. Ändert sich G in konstanter Außenlösung, so ist der osmotische Wertanstieg

$$O_2 - O_1 = C.(G_2 - G_1). \tag{4}$$

Der auf die Zeiteinheit (Stunde) bezogene Wert der Plasmolysegradänderung heiße im folgenden ΔG, die Wertänderung pro Stunde M. Es ist

$$M = \Delta G.C. \tag{5}$$

Die plasmometrische Beobachtung führt nun direkt zur quantitativen Kenntnis der zeitlichen Änderung des Plasmolysegrades $G_2 - G_1$. Die Genauigkeit, mit der diese Größe ermittelt wird, ist bedingt durch die Genauigkeit der Messung der Längenänderung des Protoplasten $l_2 - l_1$. Ich habe alle Messungen der Jahre 1931/33 selbst ausgeführt; der Fehler betrug dabei nicht mehr als $\pm 0{\cdot}1'$, d. h. ein Zehntel Teilstrich des verwendeten Okularmikrometers. Der Fehler für die Differenz $l_2 - l_1$ wird höchstens $0{\cdot}2'$. Daraus ergibt sich jeweils der prozentuelle Fehler der Einzelmessungen von $l_2 - l_1$, respektive $G_2 - G_1$. Im Mittelwert gleichen sich die Fehler aus.

Bei der einheitlich verwendeten Vergrößerung (Zeiß, Obj. *D*, Ok. IV, Tubus 150 *mm*) mißt ein Teilstrich des Mikrometers . $\mathbf{1' = 3{\cdot}79\,\mu}$.

Sind die Zellumina nicht ganz gleichmäßig breit, so kommen vielfach nach längerer Plasmolyse Längsverschiebungen der Protoplaste nach den breiteren Enden vor, die bei gleichem Volumen zu Verkürzungen führen. Sie sind bei *Majanthemum* allerdings dank der guten Zellformen selten. Da solche Fälle sorgfältig auszuschließen sind, so muß stets nicht nur die Länge der Protoplasten, sondern auch die Lage im Zellumen gemessen und vermerkt werden. Ich protokolliere jede Messung als Bruch $\left(\text{z. B. } \frac{38-78{\cdot}9}{20-85}\right)$ und schreibe in den Tabellen $(18-58{\cdot}9):65$ (Fig. 1).

Beim Schluß von ΔG auf M kann man die »Protoplasmakorrektur« vernachlässigen.

Beim Schlusse aus der Plasmolysegradänderung auf die Permeiergeschwindigkeit wird vorausgesetzt, daß Osmoregultationen (Stoffneubildung und -umsetzung

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

im Protoplasten) keine oder keine nennenswerte Rolle spielen. Exosmose von Zellstoffen während der Beobachtungszeit kann die Werte trüben. Eine leichte Volumverkleinerung der Protoplaste, wahrscheinlich infolge Exosmose, tritt bei *Majanthemum* oft in der zweiten oder dritten Stunde der Plasmolyse auf und wirkt in langsam permeiernden Lösungen (Zucker, Erythrit, auch schon Malonamid) vorübergehend stark störend (vgl. schon Höfler, 1926, p. 468); es liegt darin Nachteil des Objektes.

Bemerkt sei auch noch, daß die Zellenden bei *Majanthemum* manchmal ein wenig ausflachen, weshalb das letzte Stück der Volumdehnung vor der Deplasmolyse zur Berechnung besser nicht verwendet wird.

Bei der Berechnung der Permeationskonstanten endlich ist außer der Außenkonzentration und der zeitlichen Stoffendosmose auch die Partialkonzentration der untersuchten Substanz im Zellsaft zu berücksichtigen. Für alle im folgenden geprüften gelösten Nichtleiter, außer den Zuckern, darf angenommen werden, daß sie natürlicherweise im Zellsaft von *Majanthemum* nicht vorhanden sind. Das Konzentrationsgefälle vom Plasmolytikum zum Zellsaft ist also am Beginn der Versuche gleich der Außenkonzentration.

Die Permeationskonstante des Protoplasten P' für eine Verbindung (im Sinne Collander's) ist gleich der von außen in den Zellsaft gedrungenen Lösungsmenge in mol, bezogen auf die Einheit des Gefälles, also $P' = \frac{M}{C-c}$, wo M der Stundenwert der Stoffaufnahme, C die Konzentration der Verbindung im Plasmolytikum und c ihre Partialkonzentration im Zellsaft[1] bedeutet.

Da die stündliche Plasmolysegradänderung $\Delta G = M/C$, so ist

$$\frac{P'}{\Delta G} = \frac{C}{C-c} = \frac{C}{C-\Delta G.C.t} = \frac{1}{1-\Delta G.t} \quad \text{oder}$$

$$P' = \frac{\Delta G}{1-\Delta G.t} \tag{6}$$

Aus Gleichung (6) geht hervor, daß man zur Berechnung der Permeationskonstanten aus plasmometrischen Versuchen die angewandte Konzentration C des Plasmolytikums nicht genau zu kennen braucht. Die Konzentration C ist gleichgültig, soweit nur innerhalb des in Betracht kommenden Bereichs das Fick'sche Diffusionsgesetz gilt. Man braucht also auch die verschiedenen, zu vergleichenden Lösungen nicht auf genaue Isotonie abzustimmen. Man kann ferner die Konzentrationen und Plasmolysegrade nach den Bedürfnissen der Versuche wählen; die genaue Konzentration der Außenlösung (z. B. von Glyzerin!) ist zur P'-Berechnung ent-

[1] Ich berechne c im folgenden vorläufig durch lineare Extrapolation, wobei ich vereinfachend annehme, daß vom Eintragen der Präparate ins Plasmolytikum bis zur ersten Messung pro Zeiteinheit ebensoviel Substanz in die Protoplaste endosmiert ist wie im folgenden ersten Beobachtungsintervall. Also $c_1 = M.t = \Delta G.C.t$. — Die genauere, funktionsgemäße Umrechnung der c- und P-Werte aus ΔG (die übrigens an den jetzigen Werten wenig verändert) behalte ich mir für später vor.

behrlich. — Da der Berechnung von P' nicht die Aufnahmewerte M, sondern die ΔG-Werte zugrunde gelegt werden, gebe ich weiter im allgemeinen nur diese an. (M ist überall zu berechnen aus $M = \Delta G . C$).

Die Berechnung der auf die Oberflächeneinheit bezogenen »Permeationskonstanten des Protoplasmas« P wird später (p. 233) an der Hand von Beispielen durchgeführt.

Die praktische Berechnung der Permeationskonstanten P' gestaltet sich folgendermaßen:

Ein Präparat sei um $14^h 35$ in Glyzerin eingelegt; 1. Messung $15^h 58$ bis $16^h 10$, 2. Messung $16^h 39$ bis $16^h 49$; also Mitte des Intervalls $16^h 24$. $G_2 - G_1$ (Mittel) in 40 Min. $= 0{\cdot}03525$. (Vgl. Versuch 4, p. 231.)

$$\Delta G_{1-2} = 0{\cdot}0529$$

$$t' = 109 \text{ Min. } (14^h 35 \text{ bis } 16^h 24) = 1^{49}/_{60} \text{ St.}$$

$$\Delta G . t' = 0{\cdot}09944 = c_1' \text{ (Partialkonzentration in Prozent der Außenkonzentration)}$$

$$1 - c_1' = 0{\cdot}90056$$

$$P'_{1-2} = \frac{\Delta G}{1 - \Delta G . t} = \frac{\Delta G}{1 - c_1'} = 0{\cdot}0587$$

Für weitere Intervalle wird die Partialkonzentration c_2' direkt aus c_1' und der aus der mittleren Volumdehnung der Protoplaste $G_2 - G_1$, $G_3 - G_2$ berechneten Aufnahme bestimmt. — In unserem Beispiel: 3. Messung $17^h 27$ bis $17^h 33$, $G_3 - G_2 = 0{\cdot}0391$. Daher

$$\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}051$$

$$c_2' = c_1' + \frac{G_3 - G_1}{2} = 0{\cdot}09944 + 0{\cdot}0372 = 0{\cdot}1366$$

$$1 - c_2' = 0{\cdot}8634$$

$$P'_{2-3} = \frac{\Delta G_{2-3}}{1 - c_2'} = 0{\cdot}0591.$$

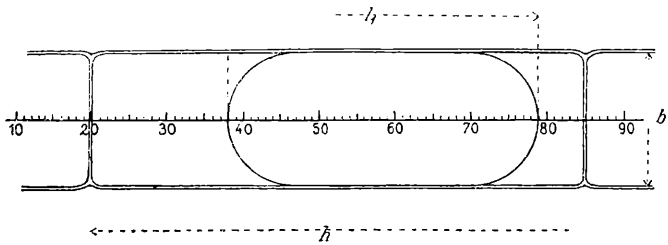

Fig. 1. Messung des Plasmolysengrades.

In allen folgenden Tabellen bedeutet (vgl. Fig. 1):

l_1 = Länge des Protoplasten bei der 1. Messung,
l = innere Zellänge.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

b = innere Zellbreite (in Mikrometereinheiten, $1' = 3 \cdot 79\,\mu$),
G_1 = Grad der Plasmolyse bei der 1. Messung,
l_2, l_3 = Protoplastenlängen bei der 2., 3. . Messung,
G_2, G_3 = Plasmolysegrade bei der 2., 3. Messung,
$G_2 - G_1$ = Plasmolysegradänderung von der 1. zur 2. Messung,
ΔG_{1-2} = Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde von der 1. zur 2. Messung,
ΔG_{2-3} = Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde von der 2. zur 3. Messung,
P'_{1-2}, P'_{2-3} = Permeationskonstante des Protoplasten, berechnet aus dem betreffenden Intervall.

IV. Versuche.

a) Harnstoff.

Die Durchlässigkeit der *Majanthemum*-Zellen für diese Verbindung wurde seit dem Jahre 1920 in zahlreichen Messungen untersucht. Die Harnstofflösung ist für die Protoplaste weitgehend unschädlich. Die Zellen bleiben darin, nachdem die Plasmolyse zurückgegangen, am Leben und lassen, in Rohrzucker von entsprechendem Mol-Gehalt übertragen, langsam, indem der Harnstoff exosmiert, neue Plasmolyse eintreten. Es empfiehlt sich, den Harnstoff als Vergleichsstoff zu verwenden und die Permeationswerte der übrigen Verbindungen darauf zu beziehen.

Zunächst die Ergebnisse einiger älterer Versuchsbeispiele (vgl. auch Höfler, 1930*a*, p. 311). Die *Majanthemum*-Pflänzchen stammten in den verschiedenen Sommern vom gleichen Standort, einem feuchten Fichtenwald in der Ramsau, und wurden zur gleichen Jahreszeit (Mitte August bis ca. 20. September) untersucht.

Bedeutung der Symbole wie oben. Die eingeklammerten Nummern sind die Originalversuchsnummern der Protokolle.

Versuch 1 (XVI, 31) Ramsau, 30. VIII. 1921 1·0 GM. **Harnstoff**

Pflänzchen mit zwei halbreifen Beeren. Schnitt $11^h 20$ in H_2O, $12^h 10$ in die Lösung, $t = 18°$ C. 1. Messung $13^h 10$—19, 2. Messung $13^h 43$—52, 3. Messung $14^h 18$—23. Die Ausdehnung der Protoplaste (Änderung des Plasmolysegrades) beträgt in 8 Zellen:

Zelle:	1	2	3	4	5	6	7	8	
$G_2 - G_1 =$	0·068	0·055	0·097	0·081	0·078	0·092	0·060	0·051	Mittel = 0·0728
$G_3 - G_2 =$	0·061	0·052	0·054	0·075	0·097	0·093	0·051	0·054	= 0·0671

Pro Stunde ΔG_{1-2} (im Mittel) = 0·132 M_{1-2} = 0·132 GM Harnstoff.
ΔG_{2-3} ( ) = 0·122 M_{2-3} = 0·122 GM
$\boldsymbol{P'_{1-2} = 0{\cdot}161}$ $\boldsymbol{P'_{2-3} = 0{\cdot}1626}$

Die Aufnahme des Harnstoffs erfolgt fast genau gleich schnell im 1. und 2. Intervall. Die Permeabilität bleibt während des Ver-

suches auf gleicher Höhe. Gleiches zeigen vielfache Messungen des zeitlichen Verlaufes der Harnstoffdurchlässigkeit bis zum Rückgang der Plasmolyse. Dies beweist, daß die Permeabilität hier während der Beobachtung keine sekundäre Veränderung (Zunahme) erleidet, und ist im Sinne des im II. Abschnitt (p. 219) Dargelegten ein wichtiges Argument dafür, daß die Permeabilität hier bei Plasmolyse im wesentlichen keiner »pathologisch veränderten«, sondern der »normalen« entspricht.

Tatsächlich bekommt man auch im Harnstoff oft genug progressiv zunehmende Ausdehnung und Permeabilität zu sehen. So sehr häufig dann, wenn die Präparate nicht ganz gut sind, wenn die Schnitte zu dünn sind, wenn sie auf dem Messer vor dem Eintragen in die Lösung ein wenig eingetrocknet waren u. dgl. — Wenn ich in einem Sommer den ersten *Majanthemum*-Versuch mache und noch nicht wieder in Übung bin, so erhalte ich oft anfangs ansteigende Werte. — Seit Jahren verwende ich in meinem zellphysiologischen Praktikum, das ich im Sommersemester für reifere Studierende abhalte, *Majanthemum* in Harnstoff als Schulobjekt für die plasmometrische Permeabilitätsbestimmung. Die Mehrzahl der Praktikanten erhält dabei gewöhnlich im ersten Versuch erhöhte, respektive während des Versuches ansteigende Permeabilität. Nachher ergeben sich am selben Material die typischen, niederen Werte. Es zeigt dies klar, daß solche Permeabilitätsbeschleunigung im plasmolysierten Schnitt nicht auf der Anwendung der plasmolytischen Methode als solcher beruht, sondern bloß auf mangelhafter Versuchstechnik, bei welcher den für wissenschaftlich zellphysiologische Untersuchungen nötigen Vorsichtsmaßregeln nicht die nötige Beachtung geschenkt wird.

In den Versuchen, die an verschiedenen Individuen bei verschiedener Witterung und Temperatur angestellt wurden, sind die Werte nicht konstant, aber die Permeabilität hält sich innerhalb bestimmter Grenzen. Der Stundenwert ΔC liegt etwa zwischen 0·05 und 0·20. — Orientierende Sommerversuche in Wien, die ich im Juni bei höherer Temperatur an jüngeren Pflanzen anstellte, gaben etwas höhere Werte von beispielsweise $\Delta G = 0{\cdot}24$. Der Bereich einer Größenordnung wird nicht überschritten.

Aus früheren Jahren liegen mir ferner Versuche vor, die zeigen, daß die Aufnahme aus verschieden stark hypertonischen Lösungen (z. B. 0·9 GM, 1·5 GM, 2·0 GM) proportional dem Gefälle erfolgt:

Versuch 2 (XXII, 77—79) Ramsau, 12. IX. 1925

Schnitt um 8^h in H_2O zur Wässerung, dann in 3 Teile geteilt; $9^h 7$ alle 3 Teilschnitte in 0·90 GM Harnstoff, Schnitt *A* bleibt in dieser Lösung, *B* und *C* $9^h 22$ weiter in 1·50 GM, Schnitt *C* $9^h 37$ von da weiter in 2·0 GM, $t = 9—10°$ C.

A. In 0·90 GM. Harnstoff:

$10^h 14—19$:	$G_1 = 0{\cdot}61_8$	$0{\cdot}59_4$	$0{\cdot}64_0$	$0{\cdot}65_4$	$0{\cdot}62_4$	$0{\cdot}60_1$	$0{\cdot}62_2$	$0{\cdot}62_3$
$11^h 18—29$:	$G_2 = 0{\cdot}67_0$	$0{\cdot}64_0$	$0{\cdot}70_1$	$0{\cdot}70_3$	$0{\cdot}67_8$	$0{\cdot}66_6$	$0{\cdot}67_2$	$0{\cdot}66_0$
$12^h 31—42$:	$G_3 = 0{\cdot}73_0$	$0{\cdot}68_2$	$0{\cdot}75_3$	$0{\cdot}76_1$	$0{\cdot}75_9$	$0{\cdot}74_1$	$0{\cdot}73_0$	$0{\cdot}71_3$

$G_2—G_1$ (Mittel) $= 0{\cdot}052$ Stundenwert $\Delta G = 0{\cdot}050_3$ $M = 0{\cdot}045_3$

$G_3—G_2$ ( ) $= 0{\cdot}055$ $\Delta G = 0{\cdot}045_2$ $M = 0{\cdot}040_7$

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

B. In 1·50 GM Harnstoff:

10^h52—11^h08:	$G_1 =$	0·532	0·516	0·485	0·531	0·533	(0·609)	(0·546)	0·525
12^h07—23:	$G_2 =$	0·600	0·589	0·556	0·604	0·604	(0·776)	(0·626)[1]	0·599
13^h22—38:	$G_3 =$	0·670	0·650	0·619	0·676	0·674	(0·872)	(0·725)	0·673

G_2-G_1 (Mittel) = 0·0730 Stundenwert $\Delta G = 0·0584$ $M = 0·0876$
G_3-G_2 ( ) = 0·0687 $\Delta G = 0·0551$ $M = 0·0825$

C. In 2·0 GM Harnstoff:

11^h46—59:	$G_1 =$	0·441	0·439	0·432	0·412	0·572	0·505	0·492	0·551	0·500
12^h50—13^h07	$G_2 =$	0·514	0·505	0·500	0·463	0·668	0·573	0·567	0·631	0·597
14^h20—33:	$G_3 =$	0·581	0·588	0·562	0·513	0·758	0·655	0·646	0·703	0·687

G_2-G_1 (Mittel) = 0·0724 Stundenwert $\Delta G = 0·0658$ $M = 0·1316$
G_3-G_2 ( ) = 0·0748 $\Delta G = 0·0516$ $M = 0·1032$

[1] Doppelprotoplaste, ins Mittel nicht einberechnet.

Der Versuch zeigt, daß die Rückdehnungsgeschwindigkeit der Protoplaste in den verglichenen Konzentrationen ähnlich, in den höheren etwas erhöht ist. Die Aufnahmewerte M sind den gebotenen Konzentrationen annähernd proportional. In der stärksten Lösung von 2·0 GM sinkt die Permeabilität im 2. Intervall, nach länger dauernder Plasmolyse etwas ab. Die absoluten Werte der Permeabilität liegen relativ niedrig (kühles Herbstwetter!).

Ich teile nun einen Versuch ausführlich samt dem Protokoll mit. Die in Klammern eingeschlossenen Zahlen geben die jeweiligen Protoplastenlängen (in Teilstrichen des Okularmikrometers, $1' = 3·79\,\mu$) und ermöglichen auch die Umrechnung der Permeationsgrößen auf die Oberflächeneinheit für jede Zelle (vgl. unter p. 233).

Versuch 3 (XLIII, 30) Ramsau, 17. IX. 1931 0·80 GM **Harnstoff.**

Schnitt 12^h35 in H_2O, 14^h Interzellularluft ausgepumpt, 14^h35 in die Lösung, $t = 12\frac{1}{4}°$ C.

	1. Messung: 15^h37—48				Messung: 16^h16—29			
	b	l_1	h	G_1	l_2-l_1	l_2	G_2	G_2-G_1
1	9	(7—65·9)	70	0·798	+ 6·4	(3 —68·3)	0·890	0·092
2	6	(6—83)	89·5	0·838	+10·0	(0·5—87·5)	0·950	0·112
3	6·9	(9—80·5)	85·5	0·805	+10·7	(2 —84·2)	0·930	0·125
4	9	(7—68)	74	0·784	+ 7·0	(3 —71)	0·878	0·094
5	2·5	(4—69·2)	75	0·838	+ 8·9	(0 —74·1)	0·956	0·118
6	7·8	(2—64·3)	81[1]	0·796	+10·6[1]	(Gr.—75)	0·938	ca. 0·144
7	8·4	(4—57·2)	62	0·813	+ 7·6	(0·2—61)	0·936	0·123
8	10·5	(9—79·6)	87	0·771	+ 7·4	(4 —82)	0·857	0·086
9	7	(4—80)	86	0·858		depl.	1·0	0·142

In 40 Min.: G_2-G_1 (Mittel) = 0·1151
ΔG (pro Stunde) = **0·1727**
M ( ) = 0·138
Für die Permeationskonstante berechnet man (vgl. p. 226) $P' =$ **0·2313**

[1] Zellenden von Teilstrich 50—81 trapezförmig verjüngt, b am Ende nur 4·8'; Zellänge (81') korrigiert auf 75', l_2-l_1 korrigiert auf 10·6; Berechnung ähnlich wie bei Höfler und Stiegler, 1930, p. 491.

Der Versuch ist völlig vergleichbar mit dem folgenden Glyzerinversuch. Der ΔG-Wert ist im Harnstoff 0·1727. Die Permeations-

konstante der Protoplaste ist im Mittel $P' = 0{\cdot}23_{13}$. Die Streuung der Einzelzellwerte ist ziemlich groß, wie gewöhnlich bei plasmometrischen Versuchen (vgl. Höfler, 1918*c*, p. 436; Höfler und Weber, 1926, p. 661).

b) Glyzerin.

Ich setze die Versuche mit Glyzerin vor diejenigen mit den Harnstoffderivaten, weil der Vergleich der Permeationswerte von Glyzerin und Harnstoff für die vergleichend protoplasmatische Kennzeichnung besonders wichtig ist.

Auch Glyzerin wird als Plasmolytikum von den *Majanthemum*-Zellen recht gut vertragen. Allerdings ist die Lebensdauer der Zellen darin doch wesentlich kürzer als im Harnstoff.

Ich teile wieder einen Versuch ausführlich mit; ich gebe aber nicht die Originalmessungen der Protokolle, sondern nur die Protoplastenlängen l, respektive deren Änderung von einer Messung zur nächsten wieder — Verschiebungen der Protoplaste innerhalb der Zellen kamen nicht vor.

rsuch 4 (XLIII, 31) Ramsau, 17. IX. 1931 zirka 0·8 GM **Glyzeri**

Schnitt 12^h35 in H_2O, ausgepumpt, 14^h35 in Glyzerin, $t = 12^1/_2°$ C.

Messung: 15^h56—16^h10				Messung: 16^h39—49			Messung: 17^h27—33			
	l_1	h	G_1	l_2-l_1	G_2	G_2-G_1	l_3-l_2	l_3	G_3	G_3-G_2
7·2	54·5	85	0·613	+4·4	0·665	0·052	+5·4	61·9	0·728	0·063
7·5	49·3	74	0·633	+2·1	0·661	0·028	+2·9	51·8	0·709	0·039
6·9	47·4	68	0·664	+3·6	0·766	0·052*	+5·5	54·2	0·797	0·083*
6·3	44·5	64	0·663	+3·1	0·711	0·048	+2·6	48·1	0·752	0·041
6·3	51·6	80	0·644	+2·8	0·683	0·039	+3·7	58·3	0·729	0·046
4·8	56·7	76	0·725	+4·4	0·783	0·058*	+6·9	66·4	0·874	0·091*
6·9	38·2	58	0·619	+2·3	0·659	0·040	+2·6	40·8	0·704	0·045
8·1	46·1	72	0·603	+2·0	$0{\cdot}63_1$	0·028	+2·7	48·1	0·668	0·037
10·2	49·0	80	0·570	+1·9	0·594	0·024	+1·8	49·3	0·616	0·022
9·6	55·0	90	0·576	+2·1	0·599	0·023	≧1·8	55·7	0·619	0·020

(Mittel) = 0·631

(in 40 Min.) $G_2-G_1 = 0{\cdot}039_2$ (in 46 Min.) $G_3-G_2 = 0{\cdot}048_7$

(pro Stunde) $\Delta G_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}058_8}$ (pro Stunde) $\Delta G_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}063_5}$

$P'_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}065_9}$ $(P'_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}073_0})$

ohne Zelle 3 und 6:

(in 40 Min.) $G_2-G_1 = 0{\cdot}035_{25}$ (in 46 Min.) $G_3-G_2 = 0{\cdot}039_1$

(pro Stunde) $\Delta G_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}052_9}$ (pro Stunde) $\Delta G_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}051_0}$

$P'_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}058_7}$ $P'_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}059_1}$

Im Intervall beträgt im Mittel für alle 10 Zellen der Stundenwert $\Delta G = 0{\cdot}058_8$ und als Permeationskonstante ergibt sich $P' = 0{\cdot}065_9$. Es verhält sich also die Durchlässigkeit der *Majanthemum*-Zellen

für Glyzerin	Harnstoff
wie $P' = 0{\cdot}065_9$	$P' = 0{\cdot}23_{13}$
$= \mathbf{0{\cdot}284}$	**1**
$= 1$	3·25

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Was den zeitlichen Verlauf im Versuch 4 betrifft, so zeigt sich die Permeabilität im 2. Intervall im Mittel für die 10 Zellen ein wenig erhöht: $\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}063_5$, $P' = 0{\cdot}073_0$. Freilich ist der Anstieg nicht groß; er ließe aber doch auf eine gewisse sekundäre Veränderung schließen. Ein Blick auf die Einzelwerte der Tabelle läßt aber erkennen, daß tatsächlich nur zwei Protoplaste (in Zelle 3 und 6) im 2. Intervall wesentlich beschleunigt werden. Schließt man diese zwei Zellen von der Berechnung des Mittels aus, so erhält man $\Delta G_{1-2} = 0{\cdot}052_9$ und $\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}051_0$. Rechnet man die Werte auf die Einheit des Gefälles um, so erhält man die Permeationskonstanten $P'_{1-2} = 0{\cdot}058_7$ und $P'_{2-3} = 0{\cdot}059_1$. Die Werte stimmen in den aufeinanderfolgenden Zeitabschnitten auf 1 % überein.

Vom folgenden Versuch teile ich nur die mittleren Stundenwerte ΔG mit. Die Zellen wurden zum erstenmal nach 1 bis $1^1/_4$ Stunden, zum zweitenmal 70 Minuten später gemessen, während die dritte Messung erst nach weiteren 19 Stunden erfolgte. Der Versuch zeigt, daß bei *Majanthemum* in Glyzerin auch nach so langer Zeit in den noch lebenden Zellen keine progressive Zunahme der Permeabilität eingetreten ist; ein Teil der Zellen ist allerdings sichtlich geschädigt oder tot. Die Temperatur war niederer als im vorigen Versuch ($10^1/_2$° C. im 1. Intervall), die Durchlässigkeit war geringer. Die systrophische Reaktion ist im Glyzerin gegenüber Zucker oder Harnstoff beeinträchtigt.

Versuch 5 (XLIII, 28) Ramsau, 14. IX. 1921 zirka 0·8 GM **Glyzerin.**

Schnitt seit 13^h05 in H_2O, um 15^h21 in Glyzerin, 1. Messung 16^h28—42, 2. Messung 17^h38—52, 3. Messung am 15. IX. 12^h48—58,

1. bis 2. Messung: ΔG (Mittel für 14 Zellen) $= 0{\cdot}031_6$, $P = 0{\cdot}033_4$
2. bis 3. Messung: $\Delta G = 0{\cdot}019_4$ $P' = ?$ [1]

Die Kontrolle in Harnstoff (Versuch 6, [XLIII, 27]) ergibt $\Delta G = 1{\cdot}00_4$ und $P' = 0{\cdot}116_8$. Es verhält sich daher

$$\frac{P'_{\text{Glyzerin}}}{\mathbf{= 0{\cdot}268}} \quad \frac{P'_{\text{Harnstoff}}}{\mathbf{1}}$$

[1] Die Berechnung der Permeationskonstanten P' aus so langen Intervallen ist noch nicht möglich, weil hier die vorläufig angewandte lineare Extrapolation zur Bestimmung der Innenkonzentration des Glyzerins c' nicht ausreicht.

Die Durchlässigkeit für Glyzerin ist bei den *Majanthemum*-Zellen bedeutend kleiner, nur etwa 0·3mal so groß wie die Durchlässigkeit für den Harnstoff. — Bei *Rhoeo* liegt das Verhältnis bekanntlich umgekehrt. Schon De Vries (1888, 1889), der als erster die Durchlässigkeit für diese zwei Stoffe verglichen hat, gibt an, daß das Glyzerin in die *Rhoeo*-Zellen etwa dreimal schneller permeiert, und Fitting (1919), dem wir ausführliche Messungen verdanken, sowie Bärlund (1926) bestätigten den Befund. Bärlunds Permeationskonstanten von *Rhoeo* sind für Glyzerin $P' = 0{\cdot}260$ und für Harnstoff $P' = 0{\cdot}059$. Das Verhältnis ist 4·4 1.

Man kann danach, zunächst rein beschreibend, einen Glyzerintypus und einen Harnstofftypus der Permeabilität unterscheiden. Für jede dieser beiden Gruppen sind in den letzten Jahren mehrfache Beispiele bekanntgeworden. Das Plasma von *Chara ceratophylla* gehört dem Harnstofftypus an, denn dort beträgt nach Collander und Bärlund P' für Glyzerin $= 0 \cdot 024$ und für Harnstoff $P' = 0 \cdot 13$. Das Verhältnis ist 1 5·4 oder 0·185 : 1; die Überlegenheit des Harnstoffs ist noch größer als bei *Majanthemum,* eine Tatsache, auf die im theoretischen Schlußteil der Arbeit zurückzukommen sein wird.

Nachdem ich die langsame Permeation des Glyzerins gegenüber dem Harnstoff schon 1920/21 an *Gentiana, Majanthemum* und anderen Objekten beobachtet, die betreffenden Glyzerinversuche aber noch nicht mitgeteilt hatte, haben zuerst Collander und Bärlund (1926, p. 12, nach Beobachtungen von Marklund) gleiches Verhalten für *Oedogonium, Lemna* und *Elodea* beschrieben. *Majanthemum*-Werte für beide Verbindungen in ihrem Verhältnis zur Wasserpermeabilität, wurden 1930 erwähnt (Höfler, p. 334, Huber und Höfler, p. 498). Wilbrandt (1931) findet die Zellen von *Begonia* etwa 2·3mal, die Zellen von *Basella* etwa 6mal rascher durchlässig für Harnstoff als für Glyzerin. Huber und Schmidt (1933) weisen nach, daß die Umkehr des Verhältnisses von Objekt zu Objekt auch unabhängig von der Plasmolyse besteht. Zahlreiche Beispiele für beide Typen hat in seinen noch nicht veröffentlichten Untersuchungen Lothar Hofmeister kennengelernt.

Auch auf zoologischer Seite brachte die vergleichende Permeabilitätsforschung der jüngsten Jahre zahlreiche einschlägige Befunde. Am bekanntesten ist der Nachweis von Jacobs (1931, p. 367f.), daß die Erythrozyten der Säugetiere viel permeabler für Harnstoff als für Glyzerin sind, während diejenigen der Fische, von Art zu Art variierend, für beide Verbindungen ungefähr gleich schnell, für Harnstoff mäßig schneller oder (Thunfisch und Makrelen) auch für Glyzerin rascher durchlässig sind. Jacobs gibt für 30 Tierarten Verhältniszahlen der Hämolysiergeschwindigkeit in Glyzerin und Harnstoff (sowie in Aethylenglykol und Harnstoff), die mit gewissen Einschränkungen ein Maß für die Eintrittsgeschwindigkeit darstellen. Am höchsten zugunsten des Glyzerins liegen diese Werte für Taube (26·7) und Ente (33·5), beim Huhn hämolysiert wieder der Harnstoff schneller (0·19). — Hoeber und Orskov (1933) bestätigen die bedeutenden Differenzen der Verhältniswerte der Hämolysezeiten verschiedener Verbindungen von Tierart zu Tierart völlig; sie dehnen die Untersuchung, die andernorts zum Vergleich mit botanischen Befunden ausführlich heranzuziehen sein wird, auf zehn auch der plasmometrischen Prüfung zugängliche Anelektrolyte aus.

Reduktion der Permeationskonstanten auf die Oberflächeneinheit.

Wir wollen nun, nachdem wir einige Originalversuche betrachtet haben, die Umrechnung der Permeabilitätswerte auf die Oberflächeneinheit durchführen. Wir bezeichnen mit Collander die »Permeationskonstanten des Protoplasten« mit P', die (zu bestimmenden) reduzierten »Permeationskonstanten des Protoplasmas« mit P.

Die Berechnung bietet an sich keinerlei Schwierigkeit, da im plasmometrischen Versuch alle nötigen Daten bekannt sind. Doch

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

muß man sich klar darüber sein, daß man bei der Flächenreduktion nur einen mittleren Wert für die ganze Protoplastenoberfläche erhält, während doch vielleicht die frei an die Lösung grenzenden und die an die Zellwand angepreßten Plasmaflächen nicht im gleichen Maße an der Aufnahme beteiligt sind (vergleiche Höfler, 1918*c*, p. 440, Huber und Höfler, 1930, p. 445, Collander und Bärlund, 1933, p. 53).

Wir wählen als Beispiel eine *Majanthemum*-Zelle mittlerer Größe. Die Zellängen betragen im Mittel für 200 gemessene Versuchszellen $h = 72 \cdot 52' = 275\ \mu$ (1 Mikrometerteilstrich = 3·79), die Zellbreite wird zu $b = 9 \cdot 21' = 34 \cdot 9\ \mu$ angenommen, Zellradius $r = 17 \cdot 45\ \mu$.

Für die Umrechnung gilt (Collander und Bärlund, p. 54) $P = \frac{v}{o} P'$, wobei für uns v das Volumen und o die Oberfläche des Protoplasten ist. Die Dimension von P ist $L.T^{-1}$ (*cm*/Stunden).

Es sei der Plasmolysegrad $G = 0 \cdot 70$. Aus der plasmometrischen Grundgleichung $G = \frac{l - \frac{b}{3}}{h}$ folgt $l = G.h + \frac{b}{3} = 204 \cdot 1\ \mu$. Für den zylindrischen Protoplasten mit halbkugeligen Kaiotten ergibt sich

$$P = \frac{v}{o} P' = \frac{(l - \frac{2}{3} r)\, r}{2\, l} P' = \frac{192 \cdot 5 \quad 17 \cdot 45}{408 \cdot 2} P'$$

$$= 8 \cdot 23\ P' \text{ (in } \mu \text{ pro Stunde)}$$

$$P = 8 \cdot 23 . 10^{-4} P' \text{ (}cm\text{ pro Stunde)} = 0 \cdot 000823\ P'$$

Für andere Plasmolysegrade des praktisch verwendeten Bereiches ändert sich der Umrechnungsfaktor nur wenig. Für $G = 0 \cdot 75$ wird

$$P = 0 \cdot 00083\ P'$$

Wir wollen vereinfachend diesen mittleren Faktor im folgenden einheitlich zur Umrechnung verwenden.

Es macht keine Schwierigkeit, die Umrechnung auch genauer für jede einzelne Zelle durchzuführen oder die Bestimmung der absoluten Permeationskonstante P aus dem mittleren Wert von P' aller Zellen für ein bestimmtes Messungsintervall vorzunehmen. Außer den plasmometrischen Maßen muß noch der Mikrometerzahlenwert bekannt sein.

Es ist z. B. in Versuch 15 (p. 240) $P'_{2-4} = 0 \cdot 0465$, h (im Mittel) = 79·01', G (zwischen der 2. und 3. Ablesung) = 0·7485; man erhält $P_{2-4} = 7 \cdot 16 . 10^{-4} P' = 0 \cdot 0000333$. — In gleicher Weise läßt sich für alle früher von mir mitgeteilten plasmometrischen Permeabilitätsmessungen die absolute Konstante P ermitteln, — entweder aus P' (vgl. zu dessen Berechuung p. 226) oder annähernd aus ΔG. Gleiche Vergrößerung wie in der vorliegenden Arbeit wurde einheitlich angewandt bei Höfler, 1918*b*, *c*, 1919, 1926, 1930; Höfler und Stiegler, 1921, 1930; Höfler und Weber, 1926. Bei Weixl-Hofmann (1930) ist 1' = 2·5 μ; bei Hurch (1933) ist 1' = 3 μ.

c) Sulfoharnstoff.

Die Permeierfähigkeit der Harnstoffderivate spielt seit Ernst Overton in der Permeabilitätstheorie eine bedeutsame Rolle. Methylharnstoff und Sulfoharnstoff dringen wesentlich rascher durch das Plasma als der Harnstoff, obwohl ihr Molvolumen größer ist; dies ist eine der Tatsachen, die erkennen läßt, daß die Molgröße nicht in erster Linie für die Permeierfähigkeit einer Verbindung bestimmend sein kann. Die Lipoidlöslichkeit der genannten Verbindungen ist dagegen größer als die der Stammsubstanz Harnstoff, was mit der Forderung der Löslichkeitstheorie in Einklang steht. — Ich war daher bemüht, die erstmalige quantitativ-plasmometrische Bestimmung mit Genauigkeit und Kritik durchzuführen. Da beide Stoffe schädigen und schon vor dem Sichtbarwerden der letalen Veränderungen die Durchlässigkeit des Plasmas stark ansteigen lassen, so ist die Gefahr einer Täuschung durch sekundäre Permeabilitätserhöhung, respektive durch erhöhte »Plasmolysepermeabilität« hier in der Tat gegeben.

Was zunächt den Sulfoharnstoff betrifft, so fand ich in den Versuchen des Jahres 1931, daß nach gewisser Zeit[1] in manchen Zellen Andeutungen von Doppelkonturen, ähnlich wie bei Kappen-

Versuch (XLVII, 81) Ramsau, 14. IX. 1933 1·0 GM **Sulfoharnstoff.**

Schnitt gewässert seit $12^h 20$. in die Lösung um $17^h 04\frac{1}{2}$. $t = 12\frac{1}{2}°$ C.

	1. Messung: $17^h 21' 50''$—$25' 08''$				Messung: $17^h 26' 50''$—$30' 10'$,		
	b	l_1 h		G_1	l_2-l_1	G_2	G_2-G_1
1	8·1	(4·5—37·5)			+0·8		
		(44 —89·2)	101	0·721	+1·4	0·751	0·030
2	8·1	(4·0—47·7)	57	0·720	+1·9	0.753	0·033
3	9·3	(14 —86)	101	0.682	+2·3	0·705	0·023
4	10·2	(8 —72·1)	84	0·723	—0·8	0·713	—0·010
5	7·8	(7·6—65·2)	70	0.787	+3·6	0·838	0·051
6	7·5	(10 —70·5)	93	0·721	+3·3	0·756	0·035

(in Min.) $G_2-G_1 = 0·034$
$\Delta G = \mathbf{0·413}$
$\boldsymbol{P}^l_{1-2} = \mathbf{0·485}$

	3. Messg.: $17^h 31' 50''$ bis $36' 10''$		4. Messg.: $17^h 37'$ bis $41' 20''$			5. Messung: $17^h 43' 20''$ bis $47' 0$		
	l_3-l_2	G_3-G_2	l_1-l_3	G_1-G_3	l_5-l_4	l_5	G_5	G_5-G_4
1	+2·1		+1·6		Stücke			
	+1·9	0·035	+2·8	0·041	fließen zusammen	93·3	0.897	0·067
2	+2·2	0·039	+2·6	0·045	ca. + 3·6	55·3	0·923	0·086
3	+3·1	0·031	+4·0	0·040	ca. +11·4	92·8	0·889	0·113
4	+2·3	0·028	+3·1	0·036	+ 5·5	74·2	0·843	0·066
5	+3·8	0·054	+2·5	0·036	+ 1·5	69·0	0.949	0·021
6	+3·6	0·039	+4·9	0·052	+ 6·2	87·5	0·914	0·067

(in 5') $G_3-G_2 = 0·035$ (in 5') $G_1-G_3 = 0·042$ (in 6') $G_5-G_4 = 0·073$
$\Delta G = \mathbf{0·429}$ $\Delta G = \mathbf{0·505}$ $\Delta G = \mathbf{0·733}$
$\boldsymbol{P}^l_{2-3} = \mathbf{0·526}$ $\boldsymbol{P}^l_{3-1} = \mathbf{0·655}$ $\boldsymbol{P}^l_{4-5} = \mathbf{1·028}$

[1] Bei 12° etwa nach 40 bis 50 Minuten, bei höherer Temperatur früher.

 ©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

plasmolyse, auftreten und daß die Zellkerne getrübt erscheinen, die Kernkörperchen deutlich hervortreten. Schon vorher beschleunigt sich die Ausdehnung. Ich habe damals aus denjenigen Einzelwerten, die von noch normal aussehenden Protoplasten gewonnen waren, als Mittel den ΔG-Wert $= 0{\cdot}538$ (?) bestimmt, den Wert aber mit Fragezeichen versehen, da die Zellen schon im folgenden Intervall deutliche Steigerung (auf das 1·5fache) erkennen ließen.

Im Jahre 1933 habe ich dann die Versuche sorgfältig wiederholt. Ich habe die Messungen so früh als möglich, d. h. sobald die Rückdehnung voll im Gange war, begonnen und in Intervallen von 5 Minuten wiederholt.

Der Versuch 7 kann als gelungen gelten. Er zeigt aufs beste das allmähliche Ansteigen der Permeabilität. Die Messung begann nach 17 Minuten. (5 von den 6 Protoplasten dehnen sich um diese Zeit schon wieder aus.) Die Werte sind dann im 1. und 2. Intervall, d. i. 19 und 24 Minuten nach dem Einlegen praktisch noch fast gleich. Der sekundäre Anstieg der Durchlässigkeit ist noch nicht im Gang. Dadurch wird wahrscheinlich, daß die Permeabilität auch bis dahin nicht oder doch nicht wesentlich erhöht ist. So wird der Wert $\Delta G = 0{\cdot}413$ noch der (annähernd) ursprünglichen Permeabilität entsprechen. Im nächsten Intervall (von der 3. zur 4. Messung) steigt ΔG auf $0{\cdot}505$, während die Protoplaste noch normal aussehen. Im folgenden Intervall ist der Anstieg rapid, $\Delta G = 0{\cdot}733$; zwei Zellen zeigen jetzt auch schon eine beginnende Doppelkontur. Noch am Schluß des Versuches leben aber die meisten Zellen des Schnittes.

Die Permeationskonstante P'_{1-2} ist aus ΔG unter der Annahme berechnet, daß vom Eintragen der Zellen ins Plasmolytikum an ebensoviel Sulfoharnstoff pro Minute permeiert ist wie im 1. Intervall; sollte vorher etwas weniger eingedrungen sein, so ist P'_{1-2} etwas zu hoch. Den folgenden P'-Werten ist bei der Berechnung die tatsächlich beobachtete weitere Aufnahme zugrunde gelegt. — Da die Partialkonzentration des Sulfoharnstoffs im Zellsaft zunimmt, das Partialgefälle ständig abnimmt, steigt P' rascher als ΔG.

Eine Messung am Schwesterschnitt im Harnstoff (Versuch $8 =$ $=$ XLVII, 49) ergibt $\Delta G = 0{\cdot}085$, $P' = 0{\cdot}0974$. Das Verhältnis der Permeabilitätskonstanten für Sulfoharnstoff und Harnstoff ist also $0{\cdot}485$ $0{\cdot}0974$ oder $4{\cdot}98 : 1$.

Ein ähnlicher Versuch (Versuch $9 =$ XLVII, 9, 2. IX. 1933, $t = 13°$ C.) ergibt $\Delta G = 0{\cdot}492$; die Kontrolle in Harnstoff (Versuch 10) ergibt $\Delta G = 0{\cdot}1195$; das Verhältnis ist $4{\cdot}11$ 1. Das Verhältnis der Permeationskonstanten würde $4{\cdot}55 : 1$.

Im bestvergleichbaren Versuchspaar von 1931 (Versuche 11, $12 =$ XLIII, 6, 7) ist im Sulfoharnstoff $\Delta G = 0{\cdot}552$, in Harnstoff $\Delta G = 0{\cdot}1368$, also das Verhältnis $4{\cdot}1\overline{6} = 1$.

Der Sulfoharnstoff dringt in die *Majanthemum*-Zellen vier- bis fünfmal so schnell ein als der Harnstoff.

Für die relative Intaktheit der Protoplaste in den frühen Intervallen, die der Beobachtung zugrunde liegen, spricht auch der Um-

stand, daß systrophische Verlagerungen auch im Sulfoharnstoff um diese Zeit deutlich eingeleitet werden. Nachher gerät die Reaktion bald ins Stocken.

d) Methylharnstoff.

Dafür habe ich 1931 den Wert $\Delta G = 0{\cdot}45_3$ erhalten. Für die Permeationskonstante berechnet sich daraus $P' = 0{\cdot}58_0$ (Versuch 13 = XLIII, 5). Der Kontrollversuch in Harnstoff ergab $\Delta G = 0{\cdot}13_{26}$ und $P' = 0{\cdot}15_2$. Es verhält sich also

$$\Delta G \text{ (Methylharnstoff)} : \Delta G \text{ (Harnstoff)} = 3{\cdot}39 : 1 \text{ und}$$
$$P' \text{ (} \quad \text{)} : P' \text{ (} \quad \text{)} = 3{\cdot}81 \; 1.$$

Im Intervall 20 bis 30 Minuten nach dem Einlegen, auf den sich die Messung bezieht, dehnen sich im Methylharnstoff die Mehrzahl der Protoplaste gleichmäßig aus, bei einigen setzt schon rapide Beschleunigung ein (sie »rennen«, sagt das Protokoll). Im Laufe einer weiteren halben Stunde erhöht sich das Tempo der Rückdehnung in den meisten Zellen, und es kommt gegenüber der Anfangsdehnung verfrüht zur Deplasmolyse. Der obige Wert ist als Mittel der 10-Minuten-Werte der noch nicht sichtbar beschleunigten Protoplaste errechnet; schlöße man die höchstdurchlässigen Zellen, die schon 20 Minuten später absterben, aus, so bekäme man $\Delta G = 0{\cdot}37_2$.

Der folgende Versuch vom Jahre 1933 (der mit Versuch 9 in Sulfoharnstoff am Schwesterschnitt vergleichbar ist) zeigt die Ausdehnung in 8-Minuten-Intervallen.

Versuch 14 (XLVII, 8) 2. IX. 1933 1·0 GM **Methylharnstoff.**

Abgeblühte Pflanze mit 2 Blättern ohne Beeren, Schnitt $1^1/_2$ Stunden gewässert, $13^h\,12$ in das Fläschchen mit Lösung eingetragen. Regen, $t = 13°$ C.

	1. Messg.: $13^h 31^1{}_2$—36				Messg.: $13^h 39^1/_2$—44			Messg. $13^h 48$ f.		
		l_1	h	G_1	l_2-l_1	G_2	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3	G_3-G_2
1	9—10	55	70	0·740	+3·8	0·794	0·054	+4·7	0·862	0·068
2	8—9	52·9	71	0·704	+4·1	0·762	0·058	ca. +7·1	0·862	(0·100)
3	12·6	62	84	0·688	+1·3	0·704	(0·016)	+4·2	0·754	0·050
4	12·9	50	$72^1/_2$	0·631	+3·8	0·688	0·052	+4·5	0·745	0·062
5	10·5	52·5	73	0·671	+3·5	0·719	0·048		abn.	
6	12	73·2	102	0·678	+4·8	0·726	0·048	(—15·0)		

(in 8') $G_2-G_1 = 0{\cdot}052$ (in 8') $G_3-G_2 = 0{\cdot}060$ (ohne Z. 2)

$\Delta G = \mathbf{0{\cdot}39_5}$ $\Delta G = \mathbf{0{\cdot}43_6}$

$P'_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}47_5}$ $P'_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}56_2}$

	4. Messg. (auf 8 Min.)			5. Messg.: $(14^h 01$—$02)$			6. Messg. $(14^h 07$—$08)$		
1	$(13^h 53)$	+3·5	0·912	0·050					
2	($53^1{}_2$)	+6·4	0·952	(0·090)					
3	(57)	+3·7	0·798	0·044	+4·1	0·846	0·048	+5·5	0·912	0·066
4	(58)	+3·0	0·787	0·042	+4·5	0·849	0·052	+4·5	0·911	0·062

(auf 8' ber.) $G_4-G_3 = 0{\cdot}055_3$ (in 4') $G_5-G_4 = 0{\cdot}050$ (in 6') $G_6-G_5 = 0{\cdot}064$

$\Delta G = \mathbf{0{\cdot}415}$ $\Delta G = \mathbf{0{\cdot}75}$ $\Delta G = \mathbf{0{\cdot}64}$

$P' = \mathbf{0{\cdot}58_2}$

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Bei der 2. Messung sind alle sechs Protoplaste intakt und fünf sind gleichmäßig gedehnt (Zelle 3 bleibt bei der Berechnung des Mittels weg, hier war die Dehnung noch nicht voll im Gang). Im nächsten Intervall zur 3. Messung ist Zelle 2 schon beschleunigt, Zelle 5 und 6 sind prämortal beschleunigt (sie »rennen«), die drei anderen Protoplaste sind noch normal und noch etwa so durchlässig wie vorher. Nachher erhöht sich die Durchlässigkeit auch in diesen Zellen. Wieder läßt sich annehmen, daß die Permeabilität, die von der 1. bis zur 4. Messung etwa gleich hoch liegt, auch vorher noch nicht oder doch nur unbedeutend erhöht war. ΔG ist also im Mittel $0 \cdot 41_5$. In der Harnstoffkontrolle ist $\Delta G = 0 \cdot 11_9$. Der Methylharnstoff permeiert demnach vor dem Eintritt der sekundären Erhöhung in die *Majanthemum*-Protoplaste etwa $3^1/_2$mal so schnell als Harnstoff.

Einer wichtigen Beobachtung ist hier noch zu gedenken. Nach der beschleunigten Deplasmolyse bleichen die roten Zellen meist nicht aus, sondern behalten noch längere Zeit ihre Farbe. Noch nach 2 Stunden sind viele Zellen rot, manche noch nach 12 Stunden und mehr. Man könnte die Zellen bei oberflächlicher Beobachtung für lebend und ihre Resistenz gegen den Methylharnstoff für entsprechend groß halten. Genauere Durchsicht lehrt indes, daß das Zytoplasma und die Zellkerne tot, koaguliert sind. Es handelt sich somit um ein Tonoplastenstadium der deplasmolysierten Zellen, bei dem nur die Vakuolenwandung mehr »überlebt« und den roten Farbstoff zurückhält.

Aus dem Erhaltenbleiben der Rotfärbung darf man also nicht darauf schließen, daß »der Protoplast« noch lebt. Ich habe diese Folgerung in meinen Aufzeichnungen von 1931 gezogen. Seither hat Döring (1932, p. 422) in seiner ausgezeichneten Untersuchung über die Hitzeresistenz pflanzlicher Zellen denselben Gedanken ausgesprochen. Er betont, daß bei Resistenzstudien das Austreten des Vakuolenfarbstoffes nicht als Todeskriterium des Protoplasten verwendbar ist, sondern »über den Lebenszustand des Gesamtsystems gar nichts, sondern nur über die Vakuolenhaut etwas aussagt«. In der älteren, noch nicht zellphysiologisch fundierten Literatur über Giftwirkung und Resistenz ist dies vielfach unbeachtet geblieben: auch Kaho (1924, 1933) hat in seinen bekannten Untersuchungen über Permeabilität und Giftwirkung der Salze die Sondernatur des Tonoplasten noch nicht im vollen Maße in Rechnung gezogen (vgl. Döring, p. 423).

e) Dimethylharnstoff.

Darin erfolgte in orientierenden Versuchen die Ausdehnung rapid (z. B. $\Delta G = 2 \cdot 6$). Sie setzt schon ein, bevor die *Majanthemum*-Protoplaste ins osmotische Gleichgewicht gelangt sein können. Da solche Durchlässigkeit wahrscheinlich schon sekundär erhöht ist,

lassen sich hier für unseren Zweck brauchbare Werte, zumindest im Totalversuch, nicht erzielen.[1]

f) Malonamid.

Mit diesem vorzüglichen Plasmolytikum hat uns Collander bekanntgemacht. In *Rhoeo*-Zellen drang das Malonamid nicht mit nachweisbarer Geschwindigkeit ein (Collander und Bärlund, 1926, Bärlund, 1929). Eine langsame aber deutliche Permeation hat dagegen zuerst Huber an *Vallisneria* nachgewiesen (Ausdehnung der Protoplaste um 2% stündlich in der Epidermis, um 0 bis 0·8% im Mesophyll). Ich maß dann 1931 ausführlich die Rückdehnung bei *Majanthemum*. Hurch untersuchte im folgenden Winter *Vallisneria* und erhielt ΔG-Werte von 0·012 bis 0·022 für die Epidermis und 0·0025 bis 0·004 für das Parenchym. Bei *Chara ceratophylla* finden Collander und Bärlund (1933) eine geringe, aber positive Permeabilität von $P' = 0{\cdot}0046$.

Die Resistenz der *Majanthemum*-Zellen gegen Malonamid ist sehr gut. Die Ausdehnung erfolgt langsamer als in den bisher behandelten Substanzen, doch recht gleichmäßig in allen gemessenen Zellen. Bis zum Rückgang der Plasmolyse kommt es zu keiner Beschleunigung. Ich gebe einen Versuch ausführlich wieder.

Ich teile diesmal für zwei Messungen auch die Protoplastenlängen l_1, l_4 aus dem Originalprotokoll mit, die den Verlauf des Versuches unmittelbar zur Anschauung bringen. Man sieht, daß sich nur zwei Protoplaste in Zelle 2 u. 10 verschoben haben (wodurch ΔG etwas zu klein erscheinen kann). Alle anderen Werte sind quantitativ.

Versuch 15 (XLIII, 17) Ramsau, 11. IX. 1931 $C \leqq 0{\cdot}80$ GM **Malonamid.**

Schnitt gewässert 11^h30 bis 13^h20 (um 13^h teilweise entlüftet), um 13^h20 in die Lösung. Systrophe um 14^h50 schon weit vorgeschritten, um 16^h meist schon perfekt. Alle Zellen bis zum Schluß des Versuchs völlig intakt.

	1. Messg.: 14^h37—52				Messg.: 15^h45—55			3. Messg. 16^h48—58		
	b	l_1	h		G_1	l_2-l_1	G_2	l_3-l_2	G_3	G_3-G_2
1	7·5	(10	—53)	57	0·711	+1·0	0·728	+3·0	0·781	0·053
2	8·3	(15	—70·5)	72	0·732	+0·3	0·736	+2·4*	0·770	0·034
3	9	(5·2	—63)	73	0·751	+1·1	0·766	+4·6	0·829	0·063
4	7·8	(14	—92)	108	0·692	+0·2	0·694	+5·8	0·747	0·053
5	8·2	(14	—90·1)	102½	0·716	—0·8	0·708	+4·0	0·748	0·040
6	6·6	(6	—46·5)	62	0·618	+0·9	0·632	+4·1	0·698	0·066
7	7·5	(4	—72·5)	90	0·733	—1·0	0·722	+4·0	0·767	0·045
8	8·5	(8	—72·7)	81	0·764	—1·5	0·746	+3·4	0·788	0·042
9	7·5	(12	—72·2)	87	0·741	+0	0·744	+3·7	0·786	0·042
10	9	(5	—58·3)	68	0·740	(—1·0)*	0·725	+3·5	0·776	0·051
11	7·8	(9	—68·1)	76	0·746	—1·0	0·733	+3·0	0·772	0·039
12	6	(9	—64·7)	72	0·746	+0·1	0·747	+4·3	0·807	0·060

(in 63 Min.) $G_3-G_2 = 0{\cdot}049$

$\Delta G = \mathbf{0{\cdot}046}_7$

$P'_{2-3} = \mathbf{0{\cdot}053}_8$

* Protoplast verschoben.

[1] Auch orientierende Versuche in Äthylenglykol von 1933 sollen hier noch unberücksichtigt bleiben. L. Hofmeister hat das Permeiervermögen dieser Verbindung in Total- und Partialversuchen eingehend studiert.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

(Fortsetzung des Versuches 15.)

4. Messg. $17^h 48—57$ Messg.: 12. IX. $11^h 15$

$t = 16{\cdot}2°$

	$l_1—l_3$	l_4	G_4	$G_4—G_3$	G_5
1	+2·1	(6—55·1)	0·818	0·037	Grenzpl.
2	+1·7	(5—64·9)	0·793	≧0·027	
3	+2·7	(2—68·2)	0·866	0·033	
4	+3·6	(11—98·6)	0·780	0·033	deplasmolysiert
5	+2·9	(13—95·2)	0·776	0·028	
6	+2·8	(4—52·3)	0·744	0·046	
7	+2·7	(0—74·2)	0·797	0·030	
8	+1·9	(1—69·5)	0·811	0·023	
9	+2·4	(7—80·3)	0·814	0·028	
10	+2·0	(10—67·8)	0·806	0·030	
11	+2·1	(4—67·2)	0·809	0·028	
12	+3·3	(4—67·4)	0·853	0·046	

(in 60 Min.) $G_4—G_3 = 0{\cdot}0324$

$\Delta G = 0{\cdot}0324$

$\boldsymbol{P'_{3-4} = 0{\cdot}0391}$

Im 1. Intervall verkleinern sich manche Protoplaste, so wie in den Zucker- und Erythritlösungen, andere dehnen sich ganz wenig aus. Die bekannte, vorübergehende Exosmose kleiner Mengen zelleigener Stoffe (p. 226) liegt hier bei Malonamid schon in der Größenordnung der Endosmose.

Bereits in der folgenden Stunde (2. bis 3. Messung) erfolgt aber die Rückdehnung im Malonamid mit großer Gleichmäßigkeit. Die durchschnittliche Abweichung der Einzelzellwerte $G_3—G_2$ vom Mittel ist $17{\cdot}5\,\%$, die mittlere Abweichung ist $21\,\%$; alle Zellen zeigen Systrophe und völlig normales Aussehen. Im nächsten Intervall ist die Dehnung etwas langsamer, aber ähnlich gleichmäßig. Am Morgen des folgenden Tages sind die Zellen deplasmolysiert. $P'_{2-3} = 0{\cdot}053_8$, $P'_{3-4} = 0{\cdot}039_1$. Die Permeationskonstante der Protoplaste ist im Mittel $0{\cdot}046_5$. Die bestimmten Werte sind so gut wie bei Harnstoff und Glyzerin und können (abgesehen von der Möglichkeit etwas größerer Prozentfehler durch Exosmose) ebenso zuverlässig als Permeationswerte gedeutet werden. Mehrere Versuche verliefen ähnlich, bei kühlerer Temperatur lag P tiefer.

Überträgt man Schnitte nach der Deplasmolyse in Rohrzuckerlösung, dann exosmiert das vorher eingedrungene Malonamid wieder langsam aus den Protoplasten, die sich nach anfänglich konkaver Abhebung wieder konvex runden und dann in bester Weise das Tempo der Exosmose des Malonamids bestimmen lassen. Im folgenden Versuch sehen die Protoplasten noch 3 Tage nach Versuchsbeginn (bei 9 bis 10° C.) intakt aus, erst nach 5 Tagen zeigten sich Abnormalitäten, auf deren Schilderung ich nicht eingehe.

Während des Plasmolyserückganges in Malonamid ist $\Delta G = 0{\cdot}020$ und $P' = 0\ 020_8$ (Exosmosefehler nicht berücksichtigt). Nach 2 Tagen ist die Plasmolyse überall völlig zurückgegangen.

Versuch 16 (XLIII, 21) 13. bis 18. IX. 1931 $\leqq 0{\cdot}8$ GM **Malonamid.**

Pflanze mit 3 Blättern und 5 Beeren. Schnitt $2^3/_4$ Stunden gewässert, teilweise entlüftet, 14^h47 in die Lösung Malonamid. — Nach 2 Tagen (15. IX. 14^h11) kommt der Schnitt in Rohrzuckerlösung und wird dort weiter bis zum 18. IX. beobachtet.

Ich gebe der Kürze halber bloß die Plasmolysegrade G wieder.

			In Malonamid				In Rohrzucker		
			13. IX.		14. IX.	15. IX.			16. IX.
			16^h05—14	17^h28—38	13^h23 f.	15^h28 f.		17^h33 f.	10^h38 f.
Z.	b	h	G_1	G_2	G_3		G_1	G_2	G_3
1	8·1	69	0·686	0·716	0·952	1	0·860	0·798	0·726
2	8·1	84	0·695	0·717	0·897	6	0·779	0·785	0·715
3	8·7	90	0·668	0·693	0·871	9	0·866	0·804	0·702
4	8·5	88	0·692	0·694	0·832				
5	9	88	0·674	0·702	0·854				
6	8·1	47	0·702	0·732	0·97	12	0·737	0·695	0·637
7	10·5	72	0·671	0·700	0·847	13	0·739	0·697	0·659
8	7·8	74	0·672	0·695	0·868	14	0·657	0·622	
9	7·5	62	0·718	0·740	0·948	15	0·842	0·778	0·728
10	7·5	72	0·715	0·738	0·893				
			$\Delta G = 0{\cdot}020$						
			$P'_{1-2} = 0{\cdot}020_8$						

Der Schnitt kommt nun in (stärker plasmolysierende) Rohrzuckerlösung. Nachdem hier osmotisches Gleichgewicht eingetreten und ein Teil der Zellen sich wieder konvex gerundet hat, nimmt die Plasmolyse weiter zu, und zwar binnen 2 Stunden etwa um $G'_2 - G'_1 = -0{\cdot}043$. Dies beruht in der Hauptsache auf der Exosmose von Malonamid. — Versuche dieser Art entkräften, wie bekannt, auch den alten »Anatonose«-Einwand!

g) Lactamid.

Dieses Amid schädigt die Zellen von *Majanthemum* rascher. Die Lösungen reagierten deutlich sauer. Im folgenden Versuch hielten die Zellen etwa $1^1/_2$ bis 2 Stunden aus. Zuletzt erfolgt Beschleunigung der Rückdehnung. Die Werte aus dem 1. Messungsintervall sind

Versuch 17 (XLIII, 23) 13. IX. 1931 0·8 GM **Lactamid.**

Wie Versuch 16, Schnitt 4 Stunden gewässert, 15^h46 in die Lösung; $t = 10°$ C.

			1. Messung	Messung	3. Messung	4. Messung
			14^h22—28	14^h44—50	15^h10—18	15^h51—57
	b	h	G_1	G_2	G_3	G_4
1	8·7	$60^1/_2$	0·703	0·769	abn.	tot
2	6·0	$76^1/_2$	0·839			lebende Zellen zurück
3	7·5	59	0·714	0·774		oder schwach pl., viele
4	7·2	52	0·736	0·821	0·918	Zellen ausbleichend
5	7·2	62	0·726	0·790		
6	7·5	$61^1/_2$		0·756	0·802	0·948
7	7·8	56		0·695	0·739	0·868
8	7·5	41		0·771	0·820	0·939
			$\Delta G = 0{\cdot}191$	**$0{\cdot}142$**	**$0{\cdot}263$**	
			$P' = 0{\cdot}227$	**$0{\cdot}181$**	**$0{\cdot}386$**	

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

wohl gut. (Der Versuch ist mit Versuch 16 in Malonamid vergleichbar.) Der ΔG-Wert ist in der zweiten halben Stunde $\Delta G_{1-2} = 0{\cdot}19_1$, $P'_{1-2} = 0{\cdot}22_7$. Im folgenden Intervall ist in intakt gebliebenen Zellen $\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}14_2$, $P'_{2-3} = 0{\cdot}18_4$. Der Wert ist aber nicht so gut wie sonst mit dem ersten vergleichbar, da teilweise andere, später abgerundete Protoplaste gemessen wurden. Im 3. Intervall ist die Permeabilitätserhöhung schon stark.

Dicyanamid ist zu wenig löslich, Formamid schädigt in hypertonischer Lösung zu stark. Beide Verbindungen sind aber von Hofmeister (an anderen Objekten) mit Hilfe des Partialverfahrens mit Erfolg plasmometrisch untersucht worden.

h) Erythrit.

Dieser vierwertige Alkohol zählt zu den vorzüglichsten plasmolytischen Agentien, die ich kenne. Die Zellen leben in hypertonischer Lösung viele Tage lang ohne Schaden. Der Erythrit ist dem Rohrzucker darin völlig ebenbürtig und ihm, was die allgemeine Anwendbarkeit als Plasmolytikum betrifft, noch insofern überlegen,

Versuch 18 (XLVII, 76) Ramsau,

Gewässert 12^h15—14^h25,

Pflanze mit 2 reingrünen Blättern ohne Beeren. Schnitthälfte 2^h25 in

1. Messung: 15^h57—16^h07 $t = 12{\cdot}5°$

Messung: 18^h36—42 $t = 12{\cdot}1°$

	b	l_1	h	G_1	l_2-l_1	G_2	G_2-G_1
1	8·4 (8·4—08)		79	0·719	+1·7	0·741	0·025
2	8·4 (10 —75·8)		83	0·759	+0·5	0·765	0·006
3	8·4 (14 —83·7)		90	0·743	+1·1	0·756	0·012
4	8 (20 —79·4)		83	0·683	+1·4	0·700	0·017
5	8·7 (12 —72·1):		79	0·724	+0·7	0·732	0·009
6	9 (7·4—62)		74	0·697	+0·5	0·701	0·007
7	7·5 (12·5—82)		90	0·744	—0·1	0·743	0·001
8	7 (7 —61·8):		71	0·739	+0·3	0·744	0·005
9	7·5 (8 —55·8)		$59^1/_2$	0·762	+1·5	0·787	0·025
10	6·9 (5 —40·4)		42	0·788	+0·9	0·810	0·022

(in $2^h37'$, ohne Zelle 7)

$G_2-G_1 = 0{\cdot}0140$

$\Delta \boldsymbol{G}_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}0053_5}$

$M_{1-2} = 0{\cdot}0034_7$

$\boldsymbol{P}_{1-2} = \mathbf{0{\cdot}0054_1}$

als er dank der geringeren Molekülgröße (Molgewicht = 122·1, Molvol. = 130·2) auch leicht durch solche Zellwände dringt, die den Durchtritt von Zucker bereits hemmen (»osmotischer Kollaps« von Spirogyren in Zucker [Küster, 1929, p. 37] von *Rhizoclonium* [Förster, 1933]). Plasmasystrophe kommt in den *Majanthemum*-Zellen stets zustande, ja sie tritt in Erythrit bemerkenswerterweise wesentlich rascher und vollkommener ein als in streng vergleichbaren Schwesterpräparaten in Fruktoselösungen gleichen Molgehaltes.

Seit Overton weist man dem vierwertigen Erythrit in der Permeationsreihe eine Mittelstellung an zwischen dem rasch eindringenden dreiwertigen Alkohol Glyzerin und den ganz langsam oder kaum permeiernden fünf- und sechswertigen Zuckern.

Das Verhältnis des Permeiervermögens von Erythrit und Monosen gibt nun eine der interessantesten Züge für die spezifische Eigenart des *Majanthemum*-Plasmas. Ich will darum meine Hauptversuche (denen orientierende Versuche vorangegangen waren) ausführlicher mitteilen. Auch liegen quantitativ-plasmometrische Untersuchungen über die Durchlässigkeit von Pflanzenzellen für Erythrit sonst bisher noch nicht vor, während für tierische Zellen verschiedene Beobachtungen (Mond und Hoffmann, 1928, Mond und Gertz 1929, Mond, 1930, Höber und Orskov, 1933, Höber und Ulrich 1934) vorliegen, die den Vergleich erwünscht machen. Nur die Aufnahme in *Rhoeo*-Zellen hat Bärlund (1929, p. 48) auf grenzplasmolytischem Weg bereits untersucht.

Ich brachte vergleichbare Schnitthälften in Lösungen von 0·65 GM Erythrit und Fruktose. Die Lösungen konnten angesichts

14. IX. 1933 — 0·65 GM **Erythrit.**

14^h entlüftet

die Lösung. Zelle 1, 4, 6, 9 dunkelrot, die übrigen lila.

3. Messung: 15. IX. 11^h46—52 — $t = 10·7°$

l_3-l_2	G_3	G_3-G_2
+6·6	0·824	0·083
+7·2	0·852	0·087
+6·5	0·828	0·072
+6·7	0·781	0·081
+4·1	0·785	0·052
+5·5	0·778	0·074
+3·9	0·787	0·044
+6·9	0·841	0·097
+7 6	0·914	0·127
+3·7	0·898	0·088

(in $17^h10'$)

$G_3-G_2 = 0·0855$

$\Delta G_{2-3} = \mathbf{0·00467}$

$M_{1-2} = 0·00308$

$P_{2-3} = \mathbf{0·00495}$

4. Messung: 16. IX., 6^h25f. — $t = 9·7°$

l_4-l_3	G_4	G_4-G_3
+ 8·6	0·938	0·019
+10·1	0·974	0·122
+ 5·5	0·889	0·061
+ 5·1	0·842	0·061
+ 6·0	0·861	0·076
+ 5·1	0·848	0·070
+ 6·0	0·854	0·067
(1, 2)	0·857	(0·017)
	dpl. >	0·086
	dpl. >	0·120

(in $21^h40'$, ohne Zelle 8)

$G_4-G_3 \geqq 0.0838$

$\Delta G_{3-4} \geqq \mathbf{0·00393}$

$M_{2-3} \geqq 0·00256$

$P_{3-4} = \mathbf{0·00456}$

der Langsamkeit des Eindringens schwächer hypertonisch gewählt werden als bei den früheren Substanzen, die Ablesungsintervalle sind entsprechend lange.

Der Kontrollversuch 19 in Fruktose zeigt eine langsame, aber sehr deutliche Rückdehnung und Permeation, die durch 2 Tage in annähernd gleicher Höhe anhält. $\Delta G_{1-2} = 0·00636$, $\Delta G_{2-3} = 0·00534$, $\Delta G_{3-4} = 0·00481$. Der Versuch entspricht genau meinen ausführlichen Messungen aus den Jahren 1925 und 1926 (Höfler 1926;

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

man vergleiche besonders die dortigen Versuche 19, 22, 24, 31); daraus geht hervor, daß das beobachtete Verhalten im Fruchtzucker das typische ist.

Der Versuch 18 in 0·65 GM. Erythrit zeigt eine ganz ähnliche, langsame Permeation. $\Delta G_{1-2} = 0{\cdot}00535$, $\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}00467$, $\Delta G_{3-4} = 0{\cdot}00393$. Die ersten Werte $l_2 - l_1$ könnten noch durch Exosmose etwas gedrückt sein (vgl. den folgenden Versuch 20), doch ist in 9 von 10 Zellen die Ausdehnung schon faßbar. Die folgenden Ausdehnungswerte $l_3 - l_2$ vom 17stündigen Intervall sind aber völlig klar und von gleichmäßiger Größe. Da der Fehler beim plasmometrischen Messen nur $\pm 0{\cdot}1$ bis $0{\cdot}2$ Teilstriche beträgt, sind

Versuch 19 (XLVII, 77) 14. IX. 1933 0·65 GM **Fruktose.**

Schnitthälfte behandelt vorigen Versuch, 14^h25 die Lösung. Zelle 5, 8, 9 hie die übrigen rot.

1. Messg.: 14. IX., 16^h15f. 2. Messg.: 18^h48f. 3. Messg.: 15. IX., 11^h33f. 4. Messg.: 16. IX., 9^h33f.

		l_1	h	G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3-G_2	l_4-l_3	G_4	G_4-G_1
1	(12 —74·6)	86	0·711	+1·5	0·017	+ 8·0	0·093	+10·7	0·946	0·125
2	(6·6—40)	43½	0·710	+0·9	0·021	+ 5·8	0·133	+ 3·6	0·947	0·083
3	(9·5—74)	87	0·713	+2·0	0·023	+10·5	0·120			Gr. 0·12
4	(9·1—58)	66	0·703	+0·7	0·011	+ 3·9	0·059	+ 4·8	0·846	0·073
5	(4·6—39)	44	0·725	+1·1	0·025	+ 4·4	0·100			Gr. 0·12
6	(15 —80·1)	88	0·711	+0·6	0·007	+ 7·5	0·085	+ 8·5	0·901	0·098
7	(9 —59·3)	67	0·713	+0·8	0·013	+ 5·7	0·085	+ 7·4	0·921	0·110
8	(6 —59·3)	70	0·724	+1·1	0·016	+ 6·6	0·080	+ 7·5	0·928	0·108
9	(10 —56·4)	60	0·735	+0·8	0·013	+ 7·8	0·130			Gr. 0·11

(in 153′) $G_2-G_1 = 0{\cdot}0162$ (in $16^3/_4{}^h$) $G_3-G_2 = 0{\cdot}0983$ (in 22^h) $G_4-G_3 = 0{\cdot}1058$

$\Delta \boldsymbol{G_{1-2}} = \mathbf{0{\cdot}00636}$ $\Delta \boldsymbol{G_{2-3}} = \mathbf{0{\cdot}00534}$ $\Delta \boldsymbol{G_{3-4}} = \mathbf{0{\cdot}00481}$

($P_{1-2} = 0{\cdot}0065$) ($P_{2-3} = 0{\cdot}00571$) ($P_{2-3} = 0{\cdot}0057$)

die Einzelbestimmungen der Längenänderung hier auf 2 bis 4% genau; das Mittel ist noch entsprechend genauer, da einseitige Versuchsfehler (Verschiebung der Protoplaste im Zellumen u. dgl.) nicht mitspielen. Die Werte bleiben durch mehrere Tage bis zum Plasmolyserückgang auf gleicher Höhe. (Der ganz leichte Abfall entspricht vielleicht nur der etwas sinkenden Temperatur.)

Die Durchlässigkeit für Erythrit und Fruktose ist also nahezu gleich! Der dreiwertige Alkohol Glyzerin permeiert dagegen in die *Majanthemum*-Zellen rund zehnmal schneller! Wir gelangen also zu dem überraschenden Ergebnis, daß gegenüber den Protoplasten von *Majanthemum* der Erythrit keine Mittelstellung zwischen dem Glyzerin und den Hexosen einnimmt, sondern nicht schneller durch das Plasma dringt wie die letzeren.

Der Erythrit permeiert bei *Majanthemum* so langsam wie die einfachen Zucker.

Daß im mitgeteilten Versuchspaar 18, 19 der Erythrit noch etwas langsamer eindringt (etwa um 15 bis 18%) als die Fruktose, hat wohl keine prinzipielle Bedeutung.

Die folgenden ausführlichen Messungen (Versuch 20) werden wiedergegeben, um den Verlauf des Erythritversuches im einzelnen zu belegen. Die Außenkonzentration war hier 0·80 GM. Die Plasmolyse geht darin erst nach 3 bis 4 Tagen zurück. Der Schnitt war nur teilweise entlüftet; wenn bei Dauerversuchen ein Teil der Interzellularluft zurückbleibt, so schützt dies die Protoplaste vor *O*-Mangel. Die Zellen der Reihe *A* (Versuch 20) lagen auf einer Seite des langen Schnittes (Luft bei Zelle 9 bis 12), die Zellen der Reihe *B* auf der anderen Seite (im dicken, luftreichen Schnitteil).

Bei der ersten Durchsicht ($14^h 50$ bis 15^h) waren viele Protoplaste nicht gut meßbar und zeigten leichte Kerben und Zerklüftungen der Menisken. Der Schnitt kam zurück ins Fläschchen. Die erste Messung begann dann eine Stunde nach dem Einlegen. Im folgenden, halbstündigen Intervall wird noch keine Rückdehnung faßbar, sondern Exosmose führt zur leichter Verkleinerung. In der folgenden Stunde zeigt dann ein Teil und in der nächsten zeigen alle Protoplaste eine schwache, nach Bruchteilen von Mikrometerstrichen zählende Ausdehnung. Sind auch die Einzelwerte ungenau, so gibt doch der Mittelwert schon etwa das typische ΔG ($\Delta G_{2-3} = 0{\cdot}0042$, $\Delta G_{3-4} = 0{\cdot}0045$, in Reihe *B* $0{\cdot}0035$). Im 5., dreistündigen Intervall kommt es wieder zu leichter Verkürzung (Zelle *A* 1, 3, 7), während interessanterweise alle Protoplaste im dicken, luftreichen Schnitteil (*A* 7, 9 bis 12, alle Zellen der Reihe *B*) fortfahren, sich auszudehnen ($\Delta G_{4-5} = 0{\cdot}0041$). Im 6. langen Intervall von 14 Stunden ist die Ausdehnung sicher faßbar. Die Permeation hält dann tagelang an bis zum völligen Rückgang der Plasmolyse. Keine Zelle stirbt ab. Am 10. September, also 6 Tage nach Versuchsbeginn, ist das Präparat gänzlich deplasmolysiert, es enthält noch Luft. Alle Zellen sehen gesund aus, und sie sind noch nach der Deplasmolyse fähig, aktive Plasmaumlagerungen auszuführen: Die vorher scharfe Systrophe hat sich ganz wieder aufgelöst.

Der Kontrollversuch 21 in 0·80 GM. Fruktose zeigt im Beginn eine gewisse Unstetigkeit, wie ich sie schon früher in einem Teil meiner *Majanthemum*-Versuche gefunden und beschrieben habe (1926, p. 469, 471), nämlich eine relativ raschere Ausdehnung[1] in der 2. Stunde ($\Delta G = 0{\cdot}0128$) und im folgenden Intervall eine leichte Exosmose, die hier gerade in den Protoplasten am meisten ausmacht, die sich vorher am stärksten vergrößert haben. Später erfolgt überall langsame Ausdehnung und Permeation.

---

[1] Daß die dauernde Ausdehnung im Erythrit und Fruchtzucker nicht auf »Anatonose«, d. i. auf Stoffneubildung im Protoplasten infolge des osmotischen Reizes durch die Plasmolyse beruht, sondern auf Permeation des Plasmolytikums, das dürfte zur Zeit kaum mehr bestritten werden (vgl. Höfler, 1926); im gleichfalls völlig unschädlichen Rohrzucker ist die Rückdehnung viel langsamer, in $CaCl_2$ unterbleibt sie ganz. Dagegen könnten solche kleine Wertanstiege, mit denen die plasmometrische Untersuchung bekannt macht, wohl vielleicht durch Stoffproduktion oder -umwandlungen in den betreffenden Protoplasten verursacht sein. Hier im Bereich der unsteten, kleinen Wertschwankungen hätte man nach aktiven »Anatonosen« und »Katatonosen« zu suchen!

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Versuch 20 (XLVII, 11) Ramsau.

Pflanze mit zwei reingrünen Blättern und einer Beere. Schnitt gewässert, 12^h—$14^h 12$, 3. Messung (17^h) hier im Erythrit-Systrophe schon fast perfekt.

Reihe *A*.

		1. Messg.: $15^h 17$—25			2. Messg.: $15^h 49$—57		3. Messg.: $16^h 55$—$17^h 07$		
	b	l_1 *h*		G_1	l_2-l_1	G_2	l_3-l_2	G_3	G_3-G_2
1	7·5	(11—49)	58	0·612	—0·9	0·596	+0·1	0·598	0·002
2	9·3	(18—59·7)	61	0·633	—0·6	0·623	0	0·623	0
3	8·1	(15—46·3)	52½	0·543	0	0·543	+0·5	0·553	0·010
4	7·2	(4—29·8)	38	0·616	—0·5	0·608	+0·5	0·616	0·008
5	6·9	(11—43·1)	48	0·600	—0·6	0·588	—0·1	0·586	—0·002
6	2·5	(5—37·8)	50	0·606	+0·2	0·610	+0·1	0·612	0·002
7	8	(5—38·8)	50	0·622	0	0·622	—0·1	0·620	—0·002
8	8	(8—37·4)	43	0·621	—0·6	0·607	0	0·607	0
9	7·2	(10—42·1)	52	0·572	—0·1	0·570	+0·4	0·577	0·007
10	6·6	(9—40·8)	46	0·641	—0·7	0·630	+0·7	0·641	0·014
11	8·4	(11—41·3)	47	0·587	—0·1	0·583	—0·3	0·577	—0·006
12	6·6	(16—65·6)	69	0·542	—0·4	0·536	+0·9	0·549	0·013
		Mittel		0·600					$G_3-G_2 = 0·0047$
									$\Delta G = \mathbf{0·0042}$

Reihe *B*.

		2. Messg.: $16^h 03$—13			3. Messg. $17^h 12$—22			
	b	l_2 *h*		G_2	l_3-l_2	G_3	G_3-G_2	
1	6·6	(28 —75·2)	77	0·584	0	0·584	0	
2	6	(8 —40)	49	0·612	+0·3	0·618	0·006	
3	7·2	(6·6—43)	57	0·597	+0·4	0·601	0·007	
4	6·6	(7 —47·5)	66	0·580	—0·1	0·578	—0·002	
5	6·6	(17 —63	72	0·608	0	0·608	0	
6	6·6	(13 —48·2)	55	0·600	0	0·600	0	
7	7·2	(10 —54·4)	69	0·609	—0·2	0·606	—0·003	
8	6·6	(8 —41·5)	51	0·614	+0·1	0·616	—0·002	
9	10		72			0·540		
10	9	(22 —68·1)	75	0·575	—0·4	0·570	—0·005	
		Mittel		0·598				

Versuch 21 (XLVII, 12) Ramsau,

Schnitthälfte 3, behandelt wie im vorigen Versuch, $14^h 12$ in die

		1. Messg.: 4. IX., $15^h 32$—43			2. Messg.: $16^h 37$—48		3. Messg.: $17^h 37$—48		
		$t = 13½°$ C.							
	b	l_1 *h*		G_1	l_2-l_1	G_2-G_1	l_3-l_2	G_3	G_3-G_2
1	8	(12·2—48)	59	0·561	+0·3	0·005	+0·4	0·571	0·005
2	9·3	(12 —41·7)	50	0·532	+0·3	0·006	+0·4	0·546	0·008
3	8	(15 —52·8)	64	0·549	+0·6	0·009	+0·6	0·567	0·009
4	9	(25 —83·3)	96	0·576	+0·4	0·004	+0·4	0·584	0·004
5	6·6	(16 —52·5)	58	0·592	+0·6	0·010	+0·3	0·607	0·005
6	12	(14 —63·0)	85	0·529	+1·2	0·015	+0·1	0·545	0·001
7	11	(17 —68·2)	90	0·528	+0·9	0·010	—0·1	0·537	—0·001
8	10	(20 —64·8)	75	0·554	+2·4	0·032	—1·8	0·561	—0·025
9	10	(18 —40·4)	51	0·571	+1·3	0·025	—0·4	0·588	—0·008
10	10	(13 —55·7)	73	0·540	+1·7	0·023	—0·6	0·555	—0·008
					(in 65 Min.)				
		Mittel		0·553	$G_2-G_1 = 0·0139$				$G_3-G_2 = -0·001$
					$\Delta G = \mathbf{0·0128}$				

IX. 1933 0·80 GM **Erythrit.**

ihweise entlüftet, 14^h12 in die Lösung, $t = 12^1/_2°$ C. (am 5. und 7. IX. 14° C.). Bei der elle *A* 1, 2, 8, *B* 9 hellila, Zelle *A* 7 farblos, alle anderen Zellen rot.

4. Messg.: 15h55—18h06		5. Messg.: 21h05—23		6. Messg.: 5. IX., 11h05—15			7. Messg.: 7. IX., 17h44f.		
l_1-l_3	G_1-G_3	l_5-l_1	G_5	l_6-l_5	G_6	G_6-G_5	l_7-l_6	G_7	G_7-G_6
+0·1	—0·002	—2·0	0·566	+3·0	0·617	0·051	+ 4·8	0·700	0·083
0	0	+0·1	0·625	+2·8	0·617	0·046	+ 7·8	0·799	0·128
+0·1	0·002	—0·7	0·541	+3·0	0·598	0·075	+14·6	0·877	0·279
+0·2	0·005	+0·2	0·627	+1·5	0·666	0·039	+ 8·1	0·879	0·213
+0·5	0·010			+2·1	0·640	0·044	+11·3	0·875	0·235
+0·3	0·006	—0·1	0·616	+1·8	0·652	0·036	Gr.	0·96	0·31
+0·3	0·006			+3·0	0·686	0·060	+13·0	0·946	0·260
0	0	0	0·607	0	0·607	0	+ 2·4	0·660	0·053
+0·5	—0·009	+0·2	0·590	+1·0	0·610	0·020	+10·2	0·806	0·196
+0·2	0·004	+0·7	0·663	+3·3	0·735	0·072	Gr.	0·99	0·255
0	0	+0·7	0·592	+2·3	0·640	0·048	+ 4·4	0·734	0·094
—0·4	0·006	+1·3	0·574	+3·6	0·626	0·052	—15 (?)	0·844	0·218
$G_4-G_5 = 0·0045$				(ohne Z. 9) $G_6-G_5 = 0·0477$			(ohne Z. 9) $G_7-G_6 = 0·206$		
$\lrcorner G = \mathbf{0·0045}$				$\lrcorner G = \mathbf{0·0034}$			$\lrcorner G = \mathbf{0·0038}$		

4. Messg. 18h10—18		5. Messg. 21h08—16			6. Messg.: 5. IX., 11h15—23			7. Messg.: 7. IX., 17h50—18	
l_1-l_3	G_1-G_3	l_5-l_1	G_5	G_5-G_4	l_6-l_5	G_6	G_6-G_5	G_7	G_7-G_6
0	0	+1·1	0·586	0·002	+3·9	0·637	0·051	0·936	0·199
0	0	—0·6	0·631	0·013	+3·1	0·694	0·063	dpl.	0·30
+0·1	0·002	+1·0	0·623	0·018	+3·6	0·686	0·063	Gr.	0·29
+0·1	0·002	+1·9	0·609	0·029	+2·7	0·650	0·041	0·791	0·141
+0·3	0·005	+1 1	0·630	0·017	+2·9	0·671	0·041	Gr.	0·21
+0·4	0·007	+0·5	0·616	0·009	+2·8	0·667	0·053	dpl.	0·32
+0·3	0·004	+1·1	0·062	0·016	+5·0	0·699	0·073	dpl.	0·30
+1·3 !	(0·026)	0	0·642	0	+3·1	0·702	0·070	dpl.	0·30
+0·4	0·007	+0·5	0·554	0·007	+1·2	0·571	0·017	(0·575)	0·004
+0·4	0·005	+1·0	0·588	0·013	+2·1	0·618	0·030	0 579	0·141
(ohne Zelle 8)					(ohne Zelle 9)			(ohne Zelle 9)	
$G_3-G_1 = 0·0033$		$G_5-G_4 = 0·0124$			$G_6-G_5 = 0·0539$			$G_7-G_6 = 0·245$	
$\lrcorner G = \mathbf{0·0035}$		$\lrcorner G = \mathbf{0·0041}$			$\lrcorner G = \mathbf{0·0038}$			$\lrcorner G = \mathbf{0·0045}$	

bis 7. IX. 1933 0·80 GM **Fruktose.**

Lösung. Zelle 4 hellila, Zelle 6 und 8 dunkellila, die anderen rot.

4. Messg.: 21h37—47		5. Messg.: 5. IX., 10h43—53			6. Messg.: 7. IX., 18h10—27			7. Messg. 10. IX., 15h35f.		
$t = 13°$		$t = 14°$			$t = 14°$			$t = 14°$		
l_4-l_3	G_4-G_3	l_5-l_4	G_5	G_5-G_4	l_6-l_5	G_6	G_6-G_5	l_7-l_6	G_7	G_7-G_6
+0·7	0·014	+1·0	0·602	0·017	+5·0	0·686	0·084	+ 3·9	0·620	
+0·7	0·023	+2·7	0·611	0·045	+5·7	0·728	0·114	+ 0·3	0·734	
+0·9	0·014	+2·3	0·618	0·037	+8·0	0·742	0·124	+ 3·1	0·694	
+1·1	0·012	+0·5	0·601	0·005	+4·8	0·651	0·050		verpilzt	
+0·9	0·015	—1·7	0·652	0·030	+5·8	0·752	0·020	+ 7·4	0·880	0·128
+0·7	0·008	+1·7	0·573	0·020	+5·6	0·639	0·066	+ 5·9	0·708	0·069
+0·6	0·006	+1·6	0·561	0·018	+7·7	0·647	0·086	+ 4·7	0·699	0·052
+0·2	0·003	+0·7	0·574	0·010*	+2·3	0·603	0·029*		tot	
+0·2	0·004	+0·9	0·610	0·018	+7·6	0·759	0·149	+ 6·8	0·893	0·134
+0·1	0·001	+0·6	0·564	0·008	+6·1	0·648	0·084	+14·3	0·844	0·196
(in 4 Stunden)		(in 13 Stunden)			(in 55½ Stunden)			(in 69 Stunden, Z. 5—10)		
$G_4-G_3 = 0·0100$		$G_5-G_4 = 0·0280$			$G_6-G_5 = 0·0806$			$G_7-G_6 = 0·1158$		
$\lrcorner G = \mathbf{0·0025}$		$\lrcorner G = \mathbf{0·0016}$			$\lrcorner G = \mathbf{0·0015}$			$\lrcorner G = \mathbf{0·0017}$		

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Während aber im Erythrit die Rückdehnung hier in 0·80 GM annähernd gleich schnell erfolgt wie im Versuch 18 in 0·65 GM, ist sie in Fruchtzucker in 0·80 GM. gegen Versuch 19 deutlich gehemmt (ebenso gegenüber den älteren Versuchen in 0·60 bis 0·65 GM.). So erfolgt hier in den späteren Tagen des Versuchs die Permeation nur etwa halb so schnell (vgl. unten).

i) Die Zucker.

Ich habe die Permeabilität der *Majanthemum*-Zellen für Traubenzucker, Fruchtzucker, Rohrzucker und Malzzucker in den Jahren 1925 und 1926 in ausgedehnten Spezialversuchen studiert und damals in den maßgebendsten Versuchen in 0·60 und 0·65 GM Stundenwerte der Rückdehnung *(ΔG)* und Stoffaufnahme *(M)* von folgender Größe festgestellt:[1]

	ΔG	*M*
Fruktose.	0 00315—0·00900	0·00200—0·00570 GM.
Glykose	0·00250—0·00645	0·00160—0·00413 GM.
Saccharose.	0·00155—0·00250	0·00100—0·00160 GM.
Maltose.	0·00375—0·00860	0·00240—0·00550 GM.

Ich verwende diese *ΔG*-Werte in der Permeabilitätsreihe. Die Pflanzen stammten vom gleichen Standort und wurden zur gleichen Jahreszeit, zum Teil etwas früher im Sommer (August) untersucht. Einige neue Versuche, wie der mitgeteilte Versuch 19, bestätigen die früheren Werte und stellen den Anschluß her. Gleichwohl ist zu beachten, daß die älteren Zuckerwerte ja nicht an denselben Pflänzchen an Schwesterschnitten gewonnen sind und daher doch nicht ebensogut mit den Versuchswerten von 1931 und 1933 vergleichbar sind wie die letzteren untereinander.

Mehrere neue Versuche in Lösungen von 0·80 GM Fruktose und Rohrzucker zeigten noch wesentlich langsamere Ausdehnung. Es bleibt zu prüfen, ob es sich dabei um eine Hemmung der anfänglichen Durchlässigkeit nach langdauernder Zuckerplasmolyse handelt, wie sie Huber und Schmidt an anderen Objekten jüngst festgestellt haben. Manche Beobachtungen lassen es vermuten, daß stärker hypertonische Zuckerlösungen (schon von 0·8 GM) die Durchlässigkeit hemmen, respektive stärker hemmen als schwach hypertonische (0·6 GM), so daß das Fick'sche Diffusionsgesetz, das, wie erwähnt, für hypertonische Harnstofflösungen in weiten Grezzen gilt, vielleicht für die Zucker — zumal eben nach langer Einwirkung — nicht mehr in gleicher Weise Geltung hat. (Man vergleiche auch El Derry.) Ich verzichte noch auf die Mitteilung von Versuchsbeispielen, weil die Sache näher verfolgt zu werden verdient.

k) Neutralsalze.

Für die Alkalisalze des K, Na, Li ist das *Majanthemum*-Plasma im plasmometrischen Versuch deutlich durchlässig, doch

[1] Die Permeationskonstanten, wie gewöhnlich berechnet, liegen um wenig höher als die *ΔG*-Werte. Die Berechnung von *P'* ist aber insofern unsicher, weil die Zucker auch als natürliche Zellsaftbestandteile vorkommen könnten und die Innenkonzentration *c* daher nicht bekannt ist. Ich gebe darum bei den Zuckerversuchen P' nicht an, sondern verwende, unter Hinweis auf die erwähnte Einschränkung, in den Reihen einfach die *ΔG*-Werte.

ebenso langsam wie das anderer Objekte (Fitting, 1915, 1917, Höfler, 1918*c*, 1919, Weixl-Hofmann, 1930); Ca-Salze permeiern überhaupt nicht in merklichem Grade (Höfler, 1926, p. 472). Neue Versuche wurden nicht angestellt, da mir Beobachtungsmaterial aus früheren Jahren vorlag (vgl. 1930*a*, p. 310). Die Möglichkeit sekundärer Permeabilitätsänderung bei Plasmolyse in hypertonischer Lösung ist im Salzversuch viel größer als bei den indifferenten Nichtleitern. Ich nehme die Salzwerte daher vorläufig nicht in die Vergleichsreihen auf.

Grundsätzlich wichtig für die vergleichende Permeabilitätsforschung ist die Beobachtungstatsache, daß die (plasmolytisch ermittelten) Permeationskonstanten der Salze von Objekt zu Objekt viel gleichmäßiger liegen und, soweit bisher bekannt, die großen Schwankungen der Anelektrolytkonstanten von Reihe zu Reihe nicht mitmachen.

l) Wasser.

Über die Wasserpermeabilität (WP.) der *Majanthemum*-Zellen liegen schon ausführliche Untersuchungen vor, denen eine eigene Arbeit (Höfler, 1930*a*) gewidmet war. *Majanthemum* war auch das Objekt, bei dem die Permeabilität des Plasmas für Wasser zuerst ihrer Größe nach mit derjenigen für gelöste Stoffe verglichen wurde (Huber und Höfler, 1930, p. 496). — Die WP. wird aus dem Tempo der Volumänderung des Protoplasten beim Plasmolyseeintritt bestimmt. Die aus den Volumkurven berechneten »Eintrittskonstanten« lagen zwischen 0·1 bis 0·25 (—0·3) pro Minute, und diese Zahlen geben, wie bewiesen wurde, auch ein recht annäherndes Maß der WP.

Die Stundenkonstanten des Wassers P' lägen demnach bei 6 bis 15, gewöhnlich bei 8 bis 12. Ich hatte im Sommer 1931 nur die alten Versuche zu wiederholen, um WP.-Werte an streng vergleichbarem Material beizustellen. Beispiel:

Versuch 22 (XLIII, 18). Ramsau, 11. IX. 1931.

Schnitt 5 Stund. gewässert, entlüftet, $16^h 33' 10''$ in 0·80 GM Fruktose, nach 3 Min. unter Deckglas. — Länge der gewählten Zelle $l = 82'$, Breite $b = 9'$; g = Plasmolysegrade während des Eintritts, G = Endgrad.

$16^h 37' 10''$	$g_1 = 0{\cdot}837^*$
$38' 20''$	$g_2 = 0{\cdot}781^*$
$38' 45''$	$0{\cdot}766$
$39' 25''$	$0{\cdot}742$
$17^h 12'$	$G = 0{\cdot}543^*$

Aus der ersten, zweiten und letzten Messung berechnet sich die Konstante: (vgl. Höfler, 1930, p. 325).

$C = 0{\cdot}80$ GM. $\quad g_1 = 0{\cdot}837 \quad g_1 - g_2 = 0{\cdot}056$
$G = 0{\cdot}543 \quad g_2 = 0{\cdot}781 \quad t_2 - t_1 = 1^1/_6$ Min.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

$$k = \frac{l}{C\,(t_2 - t_1)} \left\{ g_1 - g_2 + G \ln \frac{g_1 - G}{g_2 - G} \right\}$$

$$k = \frac{l}{0{\cdot}8\,.\,1\frac{1}{6}} \left\{ 0{\cdot}837 - 0{\cdot}781 + 0{\cdot}043\,.\,\ln \frac{0{\cdot}294}{0{\cdot}238} \right\}$$

$$\boldsymbol{k = 0{\cdot}187}$$

Man kann die WP.-Werte auch direkt aus den Plasmolyseeintrittskurven im Glyzerin, Harnstoff usw. ermitteln und nachher in denselben Zellen die Rückdehnung beobachten (vgl. z. B. 1930, p. 334). Doch erschwert dabei die Substanzdosmose während des Plasmolyseeintritts die genaue Bestimmung des Gleichgewichtsgrades G, den man zur WP.-Berechnung braucht, und die WP.-Konstanten werden ungenau. Die einfache Extrapolation, wie ich sie 1930 anwandte, kann dabei nicht voll befriedigen. Ich will meine neuen Versuche in dieser Richtung hier noch nicht behandeln.

Die vollständige Theorie des zeitlichen Volumverlaufes pflanzlicher Protoplaste während der Plasmolyse und Deplasmolyse in endosmierender Lösung gestaltet sich noch wesentlich komplizierter als die schöne, jüngst von Jacobs (1933) gegebene theoretische Behandlung der entsprechenden Volumkurven des *Arbacia*-Eies.

V Besprechung.

a) Die Majanthemum-Reihe.

Wir fassen nun die im vorigen Abschnitt geförderten Beobachtungswerte in der folgenden Tabelle zusammen. Darin bedeutet P' die Permeationskonstante des Protoplasten, P die (auf die Oberflächeneinheit reduzierte) Permeationskonstante des Protoplasmas. In der Wahl dieser Termini und der Symbole folge ich Collander (1933, p. 54). P' ist der Stundenwert der endosmierenden Lösungsmenge in Mol, bezogen auf das Konzentrationsgefälle des untersuchten Stoffes von der Außenlösung zum Zellsaft; P ist die Substanzmenge in Mol, die in einer Stunde durch ein 1 cm^2 großes Stück der Protoplastenoberfläche permeiert, bezogen auf das Gefälle in Mol.

Zwischen diesen Größen besteht die Beziehung $P = \frac{v}{q}\ P'$, wo v das Volumen und q die Oberfläche des Protoplasten bedeutet. Die Werte P sind aus P' in der früher (p. 233) dargelegten Weise berechnet. Doch kam dabei vereinfachend ein einheitlicher Faktor zur Anwendung, welcher der durchschnittlichen Größe und Oberflächenentwicklung der *Majanthemum*-Protoplaste entspricht. (Zelllänge $h = 275\,\mu$, Zellbreite $b = 34{\cdot}9\,\mu$; für den Plasmolysegrad $G = 0{\cdot}70$ ist $P = 0{\cdot}000823\ P'$; für $G = 0{\cdot}75$ ist $P = 0{\cdot}000830$. — Vgl. oben p. 234.)

Ich ziehe in der folgenden Tabelle nicht Mittelwerte aus allen vorliegenden Messungen, sondern wähle solche Versuche, die nach Material und Außenfaktoren (Temperatur) unter sich gut vergleichbar sind. Die Anmerkungen verweisen auf die Originaltabellen des vorigen Abschnittes; diesen sind auch die der Berechnung zugrunde liegenden ΔG-Werte zu entnehmen.

Permeationskonstanten von *Majanthemum*.

Substanz	P'	$P = 0{\cdot}00083\,P'$	Anmerkung
Wasser	8—12 (6—15)	66—100 . 10^{-4}	Vgl. Höfler, 1930; Vers. 22 (p. 249).
Harnstoff	0·183	1·52 . 10^{-4}	Versuch 3 (p. 230, $t = 12^1/_2°$), 6 ($10^1/_2°$), 8 ($12^1/_4°$), 10 (13°), 12 (13°).
Methylharnstoff	0·527	4·37 . 10^{-4}	Versuch 14 (p. 237, $t = 13°$), 13 ($t = 12^1/_4°$).
Sulfoharnstoff	0·624	5·18 . 10^{-4}	Versuch 7 (p. 235, $t = 12^1/_2°$), 9 ($t = 13°$).
Lactamid	0·227	1·89 . 10^{-4}	Versuch 17 (p. 241, $t = 11°$).
Malonamid	0·037	0·307 . 10^{-4}	Versuch 15 (p. 239, $t = 16°$), 16 (p. 241, $t = 10°$).
Glyzerin	0·066	0·548 . 10^{-4}	Versuch 4 (p. 231, $t = 12^1/_2°$) u. a.
Erythrit	0·005	0·041 . 10^{-4}	Versuch 18 (p. 242, $t = 12°$), 20 ($t = 13^1/_2°$).
Glykose	0·0045	0·037 . 10^{-4}	Vgl. Höfler, 1926.
Fruktose	0·006	0·05 . 10^{-4}	Versuch 19 (p. 244, $t = 12°$), vgl. Höfler, 1926.
Saccharose	0·002	0·017 . 10^{-4}	Vgl. Höfler, 1926.
Maltose	0·006	0·05 . 10^{-4} *cm*/Stunde	Vgl. Höfler, 1926.

Die Tabelle enthält die bisher bekannten Glieder der spezifizischen Permeabilitätsreihe von *Majanthemum*. Die Konstanten geben ein direktes Maß der Permeabilität des Protoplasmas für die betreffende Verbindung.

b) Vergleich mit Chara ceratophylla.

In den jüngsten Jahren ist nun die vergleichende Permeabilitätsforschung in den Vordergrund des Interesses getreten. Schon frühere Erfahrungen (besonders Höfler und Stiegler, 1921, 1930, Huber und Höfler, 1930) haben erkennen lassen, daß das Studium des Permeabilitätsverhaltens — neben seiner bekannten und anerkannten Bedeutung für Zellstoffwechsel und Zellernährung — auch ein vorzügliches Mittel liefert, verschiedene Cytoplasmen im lebenden Zustande mit physiko-chemischer Methodik in ihrer Eigenart zu charakterisieren. Die Erfahrungen von zoologischer Seite aus den letzten Jahren, besonders von Höber, Jacobs und deren Mitarbeitern, haben jene Erwartungen im vollen Maße bestätigt. Das vorzüglichste und leistungsfähigste Mittel protoplasmatischer Kennzeichnung gegebener Zellsorten glaubte ich (Höfler, 1932*b*, p. [64]) in der Bestimmung der spezifischen Permeabilitätsreihen zu erblicken. Die Eignung dieser letzteren an wohl durchgearbeiteten Beispielen darzutun, ist ein Hauptziel der Untersuchungsreihe, deren erstes Glied die vorliegende Abhandlung ist.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ausführliche Vergleiche verschiedener plasmometrisch gewonnener Reihen müssen naturgemäß für später verspart werden, bis meine Messungen an *Gentiana Sturmiana* vom Sommer 1933 und bis zumal auch L. Hofmeister's ausgedehntes Beobachtungsmaterial veröffentlicht vorliegt.

Während des ersten Arbeitssommers (1931) lagen mir zum Vergleich mit *Majanthemum* nur die in der Einleitung erwähnten Reihen von *Rhoeo* (Collander und Bärlund, 1926, Bärlund, 1929) und *Beggiatoa* (Ruhland und Hoffmann, 1925) vor. Es traf sich dann besonders glücklich, daß eben 1933 die grundlegende, umfassende Studie von Collander und Bärlund über die Permeabilität der Blattzellen von *Chara ceratophylla* für Anelektrolyte erschien, worin an diesem günstigsten Objekt — mit mikrochemischer Methode und unter Ausschaltung aller spezieller Fehlerquellen der plasmolytischen Methoden — die Permeationskonstanten für 45 Nichtleiter bestimmt wurden. Die Autoren selbst sind auf den Vergleich ihrer Werte mit den grenzplasmolytisch ermittelten P'-Werten von *Rhoeo* sowie mit meinen (1932, p. 63) vorläufigen ΔG-Werten von *Majanthemum* und mit Jacobs' nach anderer osmotischer Methode gewonnenen Permeabilitätswerten von *Arbacia* bereits kurz eingegangen. Ich setze nun meine Permeabilitätsreihe von *Majanthemum,* soweit sie bearbeitet ist, neben die entsprechenden Glieder aus der Reihe von *Chara ceratophylla.*

Permeationskonstanten P' von

	Majanthemum	*Chara* (Collander und Bärlund)
	P'	P'
Wasser ..	8—12	> 32
Harnstoff	0·183	0·13
Methylharnstoff.	0·527	0·22
Sulfoharnstoff	0·624	0·25
Lactamid	0·227	0·18
Malonamid	0·037	0·0046
Glyzerin	0·066	0·024
Erythrit	0·005	0·0015
Glukose ...	0·0045	$< 0{\cdot}001$
Fruktose	0·006	
Saccharose	0·002	
Maltose.	0·006	

Wie man erkennt, besteht zwischen den so verschiedenartigen Zellen eine weitgehende Übereinstimmung der spezifischen Reihen, die auch methodisch in so ganz verschiedener Weise ermittelt sind. Ich kann in der trotzdem bestehenden Ähnlichkeit der Ergebnisse nur mit Collander und Bärlund einen kräftigen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Anwendbarkeit und Zuverlässigkeit der von

manchen Seiten stark angezweifelten plasmolytischen Methode der Permeabilitätsmessung sehen.

Ich hatte *Majanthemum* vornehmlich darum als erstes Objekt für die ausführliche Untersuchung gewählt, weil hier die Harnstoffpermeabilität (und auch die Permeabilität für die anderen, in den Vorjahren geprüften Stoffe) so etwa die Mitte unter den mir bekannten Werten hielt und daher als Durchschnittstypus zum Vergleich mit anderen, spezifisch abweichenden Reihen geeignet erschien. Die Ähnlichkeit mit Collander's und Bärlund's *Chara*-Reihe, die auch wegen ihrer methodischen Überlegenheit auf lange Zeit hinaus die Norm zu bilden berufen sein wird, läßt nun meine damalige Wahl als eine glückliche erscheinen.

Der *Chara-Majanthemum*-Typus stellt gewissermaßen den »Normaltypus« einer Permeabilitätsreihe dar.

Gleichwohl bestehen doch auch zwischen den spezifischen Reihen beider Objekte deutliche Unterschiede, und gerade diese wollen wir vom Standpunkt der vergleichend protoplasmatischen Betrachtung nunmehr mit Schärfe hervorheben.

1. Die *Majanthemum*-Zellen sind für Wasser viel schwächer durchlässig. Für *Chara* liegt zur Zeit noch kein quantitativer Wasserwert vor, doch ist für Wasser P' größer (und zwar bedeutend größer) als 32. Für *Majanthemum* liegt P' bei 8 bis 12 (respektive 6 bis 15); der Wert ist einer der niedrigsten bisher bekannten Werte überhaupt (Huber und Höfler). Die niedrige Wasserpermeabilität bleibt auch beim spezifischen Vergleich das hervorstechendste Eigenmerkmal des *Majanthemum*-Plasmas.

2. Der Harnstoff permeiert bei *Chara* 5·4, bei *Majanthemum* nur etwa 3mal schneller als Glyzerin.

3. Der Methylharnstoff und Sulfoharnstoff permeieren bei *Majanthemum* etwa 3-, respektive 4mal, bei *Chara* nur 1·7-, respektive 2mal schneller als ihre Stammsubstanz, der Harnstoff.

4. Das Malonamid permeiert bei *Majanthemum* relativ bedeutend rascher. Es permeiert mehr als halb so rasch wie Glyzerin, während bei *Chara* das Glyzerin 5mal schneller eintritt.

5. Der Erythrit permeiert bei *Majanthemum* viel langsamer, nämlich nur etwa so schnell wie die Fruktose, während er bei *Chara* doch bedeutend schneller als die dort verglichene Hexose, Glukose eindringt (die in 43 bis 47 Stunden endosmierten Mengen [Relativprozente] waren bei *Chara* z. B. für Erythrit 2·3, für Glukose 0·2 im Mittel; vgl. Collander und Bärlund, 1933, p. 60). (Bezüglich der langsam eindringenden Substanzen sind quantitative Vergleichswerte bei den plasmometrischen Objekten entschieden leichter zu erzielen als bei *Chara*, wogegen dort für alle rasch permeiernden Verbindungen die mikrochemische Bestimmung unverkennbar leistungsfähiger ist.)

Von diesen Unterschieden sind die Sonderstellung des Wassers innerhalb der spezifischen Reihe, die geringere Überlegenheit des

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Harnstoffs gegenüber dem Glyzerin, die raschere Permeation des Malonamids, die gleich oder fast gleich langsame von Erythrit und Monosen sicherlich reeller Natur; nur die Bevorzugung der Harnstoffderivate ist insofern nicht ebensogut gesichert, als eine leichte Permeabilitätserhöhung im Methyl- und Sulfoharnstoff, die in den Versuchen (p. 235 f.) doch möglich bleibt, den Unterschied vergrößert erscheinen lassen kann. Der späte Eintritt osmotischen Gleichgewichts infolge der geringen Wasserpermeabilität macht ja *Majanthemum* gerade für das Studium der rascher schädigenden Verbindungen zu einem minder günstigen Objekt.

So sehr all diese Züge die Hervorhebung verdienen, weil sie die Eignung der spezifischen Reihen zur Kennzeichnung des Einzelplasmas erweisen, so treten sie doch gegenüber den gemeinsamen Zügen der Plasmen von *Chara* und *Majanthemum* stark zurück, und so gilt auch hier, was schon Overton festgestellt hat und was Collander und Bärlund so stark betonten, daß systematisch und physiologisch völlig verschiedenartige Zelltypen in ihren Permeabilitätseigenschaften doch eine weitgehende Übereinstimmung zeigen können.

Was nun den Vergleich von *Majanthemum,* respektive des *Chara-Majanthemum*-Types mit *Rhoeo* betrifft, so sind Collander und Bärlund auf den Vergleich der Reihen von *Chara* und *Rhoeo* bereits eingegangen (1933, p. 100 f.). Sie haben auch die Unterschiede, die zwischen diesen zwei bestbekannten botanischen Objekten bestehen, schon hervorgehoben. *Rhoeo* ist, wie bekannt, für Glyzerin entschieden permeabler als für Harnstoff und auch permeabler als für die Harnstoffderivate und die übrigen Amide. Bei *Chara* permeieren die Amide und das noch stärker basische Urotropin relativ viel rascher als bei *Rhoeo.* Malonamid permeiert bei *Chara* 4- bis 5mal leichter wie Arabinose und etwa 3mal leichter wie Erythrit, während *Rhoeo* entschieden permeabler für den Erythrit und wahrscheinlich auch etwas permeabler für die Arabinose als für das Malonamid ist. *Majanthemum* stimmt, wie man sieht, in allen genannten Zügen (soweit bis jetzt bekannt) prinzipiell mit *Chara* überein; die Überlegenheit des Malonamids über den Erythrit ist sogar noch bedeutend größer. Glyzerin und auch die Zucker rücken dagegen bei *Majanthemum,* gemessen am Harnstoff, doch deutlich höher als bei *Chara.* (Man vergleiche die Zusammenstellung der Reihen bei Höfler, 1933, p. 140.)

Auf die Aufzählung der Unterschiede zwischen *Majanthemum* und *Beggiatoa* brauchen wir hier nicht im einzelnen einzugehen, weil der Vergleich bezüglich anderer Zellsorten schon mehrfach geführt worden ist (so von Schönfelder [1931] für *Beggiatoa* und *Rhoeo,* von von Hofe [1933] für *Beggiatoa* und *Psalliota*).

Wichtig erscheint aber schließlich noch der Hinweis auf das Verhältnis der absoluten Permeabilitätsgröße von *Majanthemum* gegenüber *Chara.* Die Zellen von *Majanthemum* sind viel kleiner. Die relative Oberflächenentwicklung ist etwa 40mal größer als bei *Chara.* Der Umrechnungsfaktor ist bei *Chara* $P = 0 \cdot 0323 . P'$, bei *Majanthemum* $P = 0 \cdot 00083 . P'$. Sind also die P'-Werte bei beiden Zellsorten für eine Verbindung (z. B. Harnstoff) annähernd gleich, so ist doch die absolute (durchschnittliche) Permeabilität der Protoplastenflächeneinheit dafür bei *Chara* vielmal größer.[1] Die Permeabilität von *Chara* liegt eben, absolut gemessen, ungewöhnlich hoch.

[1] Der Unterschied der Versuchstemperaturen (Zimmertemperatur bei *Chara,* 12 bis 13° C. in meinen *Majanthemum*-Versuchen) kann nur einen kleinen Teil solcher Differenzen verständlich machen. Daß der Plasmolyse bei *Majanthemum*

Solche absolute Permeabilitätsdifferenzen sind von großer Bedeutung; wenn wir auf ihre Verwertung in vergleichend protoplasmatischer Hinsicht vorläufig noch verzichten müssen, so geschieht dies, weil bisher noch zu wenig ad hoc gesammeltes Beobachtungsmaterial vorliegt. Doch ist die Tatsache der Hervorhebung wert, daß die Verhältnisreihen der Permeabilitätskonstanten, eben unsere spezifischen Reihen, auch bei absolut so niedrig und so hoch permeablen Plasmen *(Maj.-Chara)* doch so weitgehend ähnlich sein können, während sie bei Plasmen von ähnlicher absoluter Durchlässigkeit *(Maj.-Rhoeo)* stark auseinander gehen.

c) Zur theoretischen Deutung.

Es verbleibt schließlich die Aufgabe, zu den Permeabilitätstheorien Stellung zu nehmen. Doch will ich mir in dieser Richtung hier aus verschiedenen Gründen noch Beschränkung auferlegen.

Was die vergleichende Forschung zum Ausbau der Theorien neu beizusteueren hat, das wird erst später aus dem Vergleich von mehreren Reihen hervorgehen können.

Auch ist die vorliegende Studie nicht von theoretischer Fragestellung ausgegangen. Dazu hätte die Bestimmung der Permeationskonstanten für viel zahlreichere chemische Verbindungen angestrebt werden müssen, wie sie seinerzeit Overton, später Ruhland und Hoffmann und Schönfelder für *Beggiatoa,* Collander und Bärlund für *Rhoeo* und *Chara* ausgeführt haben. Wogegen die Aufgabe der spezifischen Charakterisierung der Einzelplasmen aus ihren Permeabilitätsreihen, die jetzt für uns im Vordergrunde steht, gerade dann am besten gelöst erscheint, wenn sich klare Unterschiede der Verhältniswerte schon innerhalb weniger Glieder mit Sicherheit ergeben. Bei mikroskopischen, plasmolytisch zu untersuchenden Zellen muß uns am wertvollsten in diesem Sinne gerade die protoplasmatische Kennzeichnung aus den P'-Werten der unschädlichsten, methodisch am besten faßbaren Verbindungen sein. Unter diesen stehen die Zucker, Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Harnstoff, Wasser vorne an. Durch Hofmeister's Anwendung des Partialverfahrens wird diese Reihe beträchtlich erweitert.

Endlich will ich auch deshalb durchaus vermeiden, meine Stellungnahme zum theoretischen Permeabilitätsproblem hier schon endgültig festzulegen, weil ich es zum Programm erhoben habe, die theoretischen Vorstellungen bestimmter, als zur Zeit üblich, auf das anatomische Substrat des Permeationsvorganges zu beziehen.

Meine Gleichung $W = L + m + T$ enthält diese programmatische Forderung. Darin bedeutet W den Gesamtpermeationswiderstand des Cytoplasmas und L, m, T die Teilwiderstände des »Plasmalemmas«, des Mesoplasmas und des Tonoplasten.

---

eine wesentliche Permeabilitätshemmung zuzuschreiben ist, erscheint nach den Befunden von Huber und Schmidt (1933) nicht wahrscheinlich (vgl. p. 222). Dagegen bleibt die Frage offen, ob bei *Majanthemum* nicht die Meniskenflächen der Protoplaste an der Aufnahme viel stärker als die Längsflächen beteiligt sind.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Ich glaube annehmen zu dürfen, daß diese Teilwiderstände sich für verschiedene permeiernde Stoffe im Plasmaschlauch verschieden verteilen. Neutralsalze scheinen beim Durchtritt ihren stärksten Widerstand im Tonoplasten zu finden (Höfler, 1928, 1934*a*, Strugger, 1931, »Kappenplasmolyse«). Ich halte es ferner — mit Lepeschkin (1924) — für durchaus in Betracht zu ziehen, daß auch dem Binnenplasma in vielen Fällen ein gewisser, nicht zu vernachlässigender Anteil am Diffusionswiderstand (zumindest für bestimmte gelöste Stoffe) zukommt. Für das Wasser wissen wir bereits, daß der Tonoplast, wenigstens im isolierten Zustande, viel leichter durchlässig ist als der Gesamtplasmaschlauch, daß der Tonoplast also nicht Hauptträger des Widerstandes sein kann (Huber und Höfler, p. 448f.).

So bleibt im folgenden vor allem nur die Stellung meiner in dieser Arbeit niedergelegten Beobachtungen an *Majanthemum* zu den wichtigsten, von anderer Seite ausgesprochenen Theorien in Kürze zu erörtern.

Drei Vorstellungen stehen da zur Zeit im Vordergrunde: die Ultrafilter- oder Molekülsiebtheorie, die Löslichkeitstheorie, speziell die Lipoidtheorie und die Adsorptionstheorien. Aus der Synthese der beiden erstgenannten ist die modernste und experimentell bestfundierte der Theorien, die Lipoidfiltertheorie Collander's erwachsen.

Die Ultrafiltertheorie Ruhland's in ihrer ursprünglichen Form, die in der Permeation einen Filtrationsvorgang und in der Teilchengröße, im Molvolumen das maßgebende Moment sieht, steht beim Versuch, sie auf andere Objekte als *Beggiatoa* anzuwenden, mit zahlreichen Beobachtungen in Widerstreit und ist, wie leicht ersichtlich, auch mit der Tatsache der spezifischen Verschiedenheit der Permeabilitätsreihen nicht vereinbar. Ebensowenig kann die neuere Gestalt, die Schönfelder (1930) dieser Theorie zu geben suchte, angenommen werden; Schönfelder teilt die permeiernden Verbindungen in zwei Reihen, lipoidlösliche und indifferent-lipoidunlösliche, und meint, daß innerhalb jeder dieser Gruppen die Molekelgröße das Permeiervermögen nach dem Filterprinzip bestimmt. Auch diese Theorie erscheint nicht annehmbar, denn auch sie schreibt ja letzten Endes für alle chemischen Verbindungen und alle Zellsorten rein theoretisch die gleiche Reihenfolge des Permeiervermögens vor. Auch wenn man die Vorstellung ungleicher Porengröße bei den Plasmen verschiedener Zellen hinzunimmt, gewinnt man nur einen Freiheitsgrad; damit läßt sich aber die Vielgestaltigkeit der Reihen, ja es läßt sich z. B. schon die Existenz des Glyzerin- und des Harnstofftypus nicht deuten.

Im übrigen ist Collander (1933) auf die Kritik der Schönfelder'schen Theorie ausführlich eingegangen. Die von ihr für ätherunlöslich gehaltenen Stoffe wie Arabinose oder Methylenglykosid besitzen doch eine sehr geringe Ätherlöslichkeit, die indes genügen würde, um die an den *Rhoeo*-Zellen beobachtete, äußerst langsame Permeation dieser Verbindungen auf den Lipoidwege zu erklären. Die deutliche Antibasie aber, die Schönfelder in ihrer graphischen Darstellung zwischen der Molekülgröße der für lipoidunlöslich gehaltenen Substanzen und deren Permeiervermögen findet, läßt sich einfach daraus erklären, daß bei all diesen Substanzen auch die Ätherlöslichkeit im allgemeinen mit wachsender Molekelgröße abnimmt. Man kann die Reihung der »indifferenten« Stoffe also ebensogut auf ihre abnehmende Lipoidlöslichkeit wie auf die wachsende Molgröße zurückführen (Collander und Bärlund, 1933, S. 104).

Dagegen vermag die Löslichkeitstheorie (Overton, Meyer) die spezifischen Verschiedenheiten der Reihen im Prinzip verständlich zu machen. Man muß nur — wie Höber und seine Schüler es tun — nicht ein einheitliches Zellipoid annehmen, sondern verschiedene, von Plasma zu Plasma wechselnde Zellipoide fordern, die, mit ungleichen Löslichkeitseigenschaften ausgestattet, das Permeabilitätsverhalten der Zellen bestimmen. Collander und Bärlund haben die Modellversuche sehr vervollkommnet; sie haben außer den zuvor meist allein herangezogenen Verteilungskoeffizienten Äther/Wasser auch solche für Olivenöl/Wasser und für ein Öl-Ölsäuregemisch (Olivenöl mit 20 Volprozent Ölsäure) und Wasser exakt bestimmt. Zwischen den Permeationskonstanten der geprüften Verbindungen bei *Chara* und ihren Verteilungskoeffizienten Olivenöl-Wasser ergab sich im großen und ganzen eine direkte Proportionalität, nicht bloße Symbasie. Im übrigen sind auch schon die Reihen der Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und den bisher untersuchten lipoiden Lösungsmitteln unter sich recht verschieden:

Verteilungskoeffizienten
(nach Collander und Bärlund, 1933, p. 83, 86).

	Äther, Wasser $k.\ 10^3 =$	Olivenöl, Wasser $k.\ 10^3 =$	Öl-Ölsäure,* Wasser $k.\ 10^3 =$
Harnstoff	0·47	0·15	5·2
Methylharnstoff	1·2	0·44	9·6
Sulfoharnstoff	6·3	1·2	4·0
Lactamid	1·8	0·58	3·7
Malonamid	0·30	0·08	1·1
Glyzerin	0·66	0·07	0·15
Erythrit	0·11	0·03	0·06
Glukose, Saccharose, Maltose	$< 0·01$		

Daß die verschiedenen Plasmen ein verschiedenes Lösungsvermögen besitzen, war auch meine Vorstellung, die ich mir seit der Beobachtung der so enorm differierenden Harnstoffpermeabilität verschiedener Zelltypen und der ersten Entdeckung der spezifisch verschiedenen Verhältniszahlen der Permeationskonstanten gegebener Stoffpaare an verschiedenen Plasmen (Höfler und Stiegler, 1921) gebildet hatte. Gerade für die letzte Tatsache besitzen wir heute zumal auch auf zoologischem Gebiet dank den Studien von Jacobs und Höber und deren Mitarbeitern bereits ein umfassendes Belegmaterial.

Eine weitere Ausgestaltung hat diese Vorstellung erfahren, als Höber und seine Mitarbeiter — als Botaniker vor allem Wilbrandt (1931) — das Prinzip der gruppengebundenen Löslichkeit aufstellten. Wenn man die P′-Konstanten der einzelnen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Stoffe und Zellsorten zueinander in Beziehung setzt, dann zeigt sich, daß im Verhältnis zu *Rhoeo* die Zellen von *Basella* (wie diejenigen von *Chara* und *Majanthemum*) den Eintritt der Aminogruppen führenden Verbindungen sehr begünstigen, während bei *Begonia*-Zellen die von Wilbrandt geprüften OH-Gruppen führenden Verbindungen alle nur sehr schwer permeiern. Collander hält Höbers Deutung für sehr plausibel und verweist auf die Möglichkeit, daß die für den Durchtritt maßgebenden Lipoide oder Lipoidgemische bei der amiddurchlässigen Gruppe ein spezifisch größeres Lösungsvermögen für schwach basische Stoffe besitzen könnten als bei der anderen. Die Deutung wird durch die erwähnten Modellversuche aufs beste gestützt, denn der Ölsäurezusatz steigert das Aufnahmevermögen des Olivenöls gerade für diejenigen Substanzen am meisten, welche durch das *Chara*-Plasma relativ leichter als durch das *Rhoeo*-Plasma permeiern. Die Plasmahautlipoide der *Chara*-Zellen hätten demnach einen saureren Charakter als diejenigen der *Rhoeo*-Zellen. Die gleiche Überlegung kann uns für den Vergleich der Plasmen von *Rhoeo* und *Majanthemum* gelten, denn das letztere unterscheidet sich ja vom *Rhoeo*-Plasma im gleichen Sinne wie *Chara*.

Wenden wir unser Augenmerk nun wieder dem Vergleich von *Majanthemum* und *Chara* zu, so läßt sich vor allem erkennen, daß die *P'*-Werte unserer *Majanthemum*-Reihe den Verteilungskoeffizienten Olivenöl/Wasser, respektive Öl-Ölsäure/Wasser[1]) im ganzen ebenso annähernd proportional sind wie diejenigen von *Chara* (man vergleiche das anschauliche Diagramm bei Collander und Bärlund, 1933, p. 93); ja mehrere Verbindungen mit großem Molvolum kommen der Proportionalität sogar noch näher.

Was nun aber die oben (p. 253) hervorgehobenen Unterschiede der zwei Reihen betrifft, die trotz der weitgehenden Übereinstimmung unverkennbar bestehen, so erscheint hier gerade Collander's Lipoidfiltertheorie angetan, im wichtigsten Punkte ein gewisses Verständnis anzubahnen.

Wir haben früher (p. 252) die spezifischen Permeabilitätsreihen von *Majanthemum* und *Chara* nebeneinandergestellt. Wir wiederholen die Tabelle, stellen aber die Verhältnisreihen so dar, das wir zur besseren Übersicht den Harnstoffwert in beiden gleich 1 setzen.

Dann zeigt sich, daß bei *Majanthemum* die *P'*-Werte aller auf den Harnstoff folgenden Verbindungen (außer Lactamid) deutlich höher liegen als bei *Chara*. Diese Substanzen, die ein größeres Molvolum besitzen als der Harnstoff, permeieren also bei *Majanthemum* relativ rascher. Dagegen ist für Wasser die Durchlässigkeit bei *Majanthemum*, auch auf den Harnstoffwert gleich 1 bezogen, noch vielmal niedriger als bei *Chara*.

---

[1] Da der Unterschied beider Koeffizientenreihen nur auf dem Ölsäurezusatz beruht, ließen sich wahrscheinlich bei abgestuftem, schwächerem Zusatz intermediäre Reihen erzielen, die fallweise mit dem Verhältnis der *P'*-Werte noch besser harmonieren.

Relative Permeabilitätsreihen von *Majanthemum* und *Chara*.

für Harnstoff = 1		Substanz	für Glyzerin = 1		Molvol.
Majanthemum	*Chara*		*Majanthemum*	*Chara*	
44—66	> 250	Wasser	120—180	> 1330	18·8
1	**1**	Harnstoff	2.77	5·4	59·2
2·88	1·69	Methylharnstoff	7·98	9·2	81·2
3·41	1·93	Sulfoharnstoff	9·45	10·4	69·6
1·24	1·38	Lactamid	3·44	7·5	98·5
0·202	0·035	Malonamid	0·560	0·192	104·4
0·36	0·185	Glyzerin	**1**	**1**	87·8
0·027	0·012	Erythrit	0·076	0·063	130·2
0·025		Glukose	0·068		183·2
0·033	<0·0077	Fruktose	0·091	<0·042	183·2
0·011		Saccharose	0·030		345·6
0·033		Maltose	0·091		

Noch anschaulicher wird die Sache, wenn wir in beiden Reihen den Glyzerinwert gleich 1 setzen. Es halten sich dann die P'-Werte etlicher Verbindungen auf ähnlicher Höhe (vgl. Tabelle rechts).

Versuchen wir nun, an Hand dieser Zahlenreihen einmal umgekehrt die P'-Konstanten von *Chara* an der *Majanthemum*-Reihe zu messen, dann zeigt sich bei *Chara* schon der Harnstoff deutlich gefördert. Er permeiert relativ fast doppelt so schnell als bei *Majanthemum* (nur das Lactamid folgt ihm).

Vielleicht läßt sich die Stellung des Harnstoffs in beiden Reihen so verstehen, daß der Harnstoff mit seinen kleinen Molekülen bei *Chara* schon deutlich gefördert wird, bei *Majanthemum* hingegen noch nicht oder kaum. Man hätte sich demnach vorzustellen, daß, nach Collander's Lipoidfilterprinzip, der Einfluß der »Porenpermeabilität« bei *Chara* etwas höher hinaufreicht als bei *Majanthemum*. Collander und Bärlund nehmen ja an, daß bei *Chara* Verbindungen mit der Molrefraktion unterhalb etwa 15 (— 18) infolge einer gewissen Ultrafilterwirkung bereits »leichter permeieren als im gleichen Maße öllösliche Verbindungen, deren Molekülgröße jene Grenze überschreitet«. Die Molrefraktion des Harnstoffs beträgt $Mr_D = 13{\cdot}7$, das Molvolum = 59. Während hiedurch bei *Chara* schon ein rascherer Durchtritt bedingt wird, erscheint das Molekül von dieser Größe bei *Majanthemum* noch nicht gefördert.

Mit dieser Vorstellung steht nun das ungleiche Permeationsvermögen des Wassers im besten Einklang, dessen Stellung in den verglichenen Reihen am stärksten auseinander geht. Denn die soviel mal kleinere Wasserdurchlässigkeit von *Majanthemum* läßt sich am einfachsten in der Art verstehen, daß das Plasma hier engere Poren oder weniger zahlreiche Poren hat, daß es, allgemein gesagt, ein kleineres relatives Porenareal besitzt als das Plasma von *Chara*. Trotz der so besonders kleinen Wasserpermeabilität spricht ja doch auch bei *Majanthemum* alles dafür, das Wasser auf den Porenweg

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

zu verweisen. Denn sein Durchtritt durch das Plasma erfolgt ja doch auch hier immer noch zu rasch, um aus der Löslichkeit in irgendwelchen (als homogene Phase vorhandenen) Lipoiden verständlich zu sein (vgl. Huber und Höfler, 1930, p. 484f, 498).

Von der Warte der Lipoidfiltertheorie gesehen, hätten also die Plasmen von *Majanthemum* und *Chara* ähnliche relative Löslichkeitseigenschaften der den Durchtritt bestimmenden Lipoidphase, während die Porenphase verschieden ist, nämlich bei *Chara* stärker, bei *Majanthemum* schwächer entwickelt.

Außerdem gibt es freilich noch klare spezifische Unterschiede zwischen beiden Reihen, die sich aus dem Filterprinzip und der Vorstellung ungleicher Porengröße nicht deuten lassen, so die weitaus raschere Permeierfähigkeit des Malonamids bei *Majanthemum*. Es bleibt am wahrscheinlichsten anzunehmen, daß derartige Differenzen (wie auch andere, kleinere) auf Unterschieden im Lösungsvermögen der Lipoidphasen beruhen.

Das ungleiche Verhältnis des Erythrits zu den Zuckern in den verschiedenen Reihen, das sich interessanten zoologischen Befunden der jüngsten Jahre (Mond und Hoffmann, Mond und Gertz, Höber und Ørskov, Höber und Ulrich, Ulrich) anreiht, verdient zum Gegenstand spezieller Versuche gemacht zu werden. Das *Majanthemum*-Plasma, bei dem der Erythrit so langsam permeiert wie die Fruktose, bildet ein Extrem unter den bekannten pflanzlichen Objekten; schon in die Stengelzellen von *Gentiana Sturmiana* dringt der Erythrit nach meinen Messungen von 1933 im plasmometrischen Versuch 5- bis 10mal rascher ein als die Monosen.

VI. Zusammenfassung.

1. Für die Hypodermzellen des Stengels von *Majanthemum bifolium* wurde auf plasmometrischem Weg folgende spezifische Permeabilitätsreihe ermittelt.[1]

Substanz	P'	P
Wasser.	8—12	66—100 . 10^{-4} *cm*/Stunde
Harnstoff	0·183	1·52 . 10^{-4}
Methylharnstoff	0·527	4·37 . 10^{-4}
Sulfoharnstoff.	0·624	5·18 . 10^{-4}
Lactamid	0·227	1·89 . 10^{-4}
Malonamid.	0·037	0·307 . 10^{-4}
Glyzerin.	0·066	0·548 . 10^{-4}
Erythrit	0·005	0·041 . 10^{-4}
Glykose	0·0045	0·037 . 10^{-4}
Fruktose.	0·006	0·05 . 10^{-4}
Saccharose.	0·002	0·017 . 10^{-4}
Maltose.	0·006	0·05 . 10^{-4}

2. Die Reihe zeigt nahe Übereinstimmung mit Collander's und Bärlund's mikrochemisch ermittelter Reihe für die Zellen der Alge *Chara ceratophylla* (vgl. p. 252). Doch liegen die absoluten *P*-Werte bei *Chara* höher. Die beiden Verhältnisreihen stellen aber einen Normaltypus dar, an dem die Reihen anderer Objekte sich werden messen lassen.

3. Dennoch bestehen auch deutliche Unterschiede: Der Harnstoff permeiert bei *Majanthemum* langsamer, das Wasser permeiert absolut und relativ viel langsamer als bei *Chara*. Vom Standpunkte der Collander'schen Lipoidfiltertheorie beurteilt, besitzen vielleicht beide Plasmen ein ähnliches relatives Lösungsvermögen der für den Stoffdurchtritt maßgebenden Lipoidphasen, während die Porenphase bei *Chara* stärker, bei *Majanthemum* schwächer entwickelt ist; der Einfluß der Porenpermeabilität reicht bei *Majanthemum* weniger hoch.

4. Weitere spezifische Merkmale des *Majanthemum*-Plasmas gibt dessen höhere Durchlässigkeit für Malonamid und die gegenüber anderen Plasmen recht geringe Durchlässigkeit für Erythrit, der nicht oder kaum schneller permeiert als die einfachen Hexosen.

---

[1] P' = Permeationskonstanten des Protoplasten, P = Permeationskonstanten des Protoplasmas, auf die Flächeneinheit (cm^2) berechnet.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Literatur.

Albach W., 1931, Über die schädigende Wirkung der Plasmolyse und Deplasmolyse. Protoplasma, *12*, 255.

Bärlund H., 1929, Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Acta bot. Fenn., *5*, 1.

Collander R., 1932, Permeabilität. Handwörterbuch d. Naturwiss., 2. Aufl., *7*, 804.

Collander und Bärlund, 1926, Über die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo discolor*. Soc. Scient. Fenn., Comment. Biol., *2*, Nr. 9.

— — 1933, Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla*. II. Die Permeabilität für Nichtelektrolyte. Acta bot. Fenn., *11*, 1.

Döring H., 1932, Beiträge zur Frage der Hitzeresistenz pflanzlicher Zellen. Planta, *18*, 405.

El Derry B. H., 1929, Plasmolyseform- und Plasmolysezeitstudien. Protoplasma, *8*, 1.

Fitting H., 1915, Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot., *56*, 1.

— 1917, Untersuchungen über isotonische Koeffizienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Ebd., *57*, 553.

— 1919, Untersuchungen über die Aufnahme und über anomale osmotische Koeffizienten von Glyzerin und Harnstoff. Ebd., *59*, 1.

Fleischmann W., 1928, Untersuchungen zur Frage der Permeabilität pflanzlicher und tierischer Zellmembranen für Kohlehydrate. Pflügers Arch., *220*, 448.

Förster K., 1933, Quellung und Permeabilität der Zellwand von *Rhizoclonium*. Planta, *20*, 476.

Germ H., 1932*a*, Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung Pflanzenzellen nach Plasmolyse. I. Protoplasma, *14*, 566.

— 1932*b*, Desgl. II. Ebd., *17*, 509.

— 1933, Desgl. III. Ebd., *18*, 260.

Gicklhorn J., 1932, Intracelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. Protoplasma, *15*, 90.

Höber R. und Pupilli G., 1931, Neue Versuche über die Aufnahme von Farbstoffen durch die roten Blutkörperchen. Pflügers Arch., *226*, 586.

— und Ørskov S. L., 1933, Untersuchungen über die Permeiergeschwindigkeit von Anelektrolyten bei den roten Blutkörperchen verschiedener Tierarten. Pflügers Arch., *231*, 599.

— und Ulrich H., 1934, Über das Eindringen lipoidunlöslicher Nichtelektrolyte mit relativ großem Molekularvolumen in Säugetiererythrocyten. Klinische Wochenschr., *13*, 63.

von Hofe F., 1933, Permeabilitätsuntersuchungen *Psalliota campestris*. Planta, *20*, 354.

Höfler K., 1918*a*, Eine plasmolytisch-volumetrische Methode zur Bestimmung des osmotischen Wertes von Pflanzenzellen. Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., I. Abt., *95*, 99.

— 1918*b*, Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. d. d. bot. Ges., *36*, 414.

— 1918*c*, Über die Permeabilität der Stengelzellen von *Tradescantia elongata* für Kalisalpeter. Ebd. *36*, 423.

— 1919, Über den zeitlichen Verlauf der Plasmadurchlässigkeit in Salzlösungen. Ebd. *37*, 314.

— 1926, Über die Zuckerpermeabilität plasmolysierter Protoplaste. Planta, *2*, 454.

Höfler K., 1930*a*, Über Eintritts- und Rückgangsgeschwindigkeit der Plasmolyse und eine Methode zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasten. Jahrb. f. wiss. Bot., *73*, 300.

— 1930*b*, Das Plasmolyseverhalten der Rotalgen. Zeitschr. f. Bot., *23*, 560.

— 1931, Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen. Ber. d. d. bot. Ges., *49* (79).

— 1932*a*, Zur Tonoplastenfrage. Protoplasma, *15*, 462.

— 1932*b*, Vergleichende Protoplasmatik. Ber. d. d. bot. Ges., *50* (53).

— 1933, Zellphysiologie und Protoplasmatik. Fortschritte d. Botanik, *2*, 132.

— 1934*a*, Kappenplasmolyse und Salzpermeabilität. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, *50*, 70.

— 1934*b*, Neuere Ergebnisse der vergleichenden Permeabilitätsforschung. Ber. d. d. bot. Ges., *52*, 355.

— und Stiegler A., 1921, Ein auffälliger Permeabilitätsversuch in Harnstofflösung. Ebd. *39*, 157.

— — 1930, Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. Protoplasma, *9*, 469.

— und Weber F., 1926, Die Wirkung der Äthernarkose auf die Harnstoffpermeabilität von Pflanzenzellen. Jahrb. f. wiss. Bot., *65*, 643.

Hofmeister Lothar, Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. In Vorb.

Huber B. und Höfler K., 1930, Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jahrb. f. wiss. Bot., *73*, 351.

— und Schmidt H., 1933, Plasmolyse und Permeabilität. Protoplasma, *20*, 203.

Hurch H., 1933, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilitätsverteilung in den verschiedenen Geweben des Blattes. Beih. d. Bot. Centralbl., Abt. I, *50*, 211.

Jacobs M. H., 1931*a*, Osmotic hemolysis and zoological classification. Proc. Amer. Philos. Soc., *70*, 363,

— 1931*b*, The permeability of the erythrocyte. Ergebnisse der Biologie, *7*, 1.

— 1932, Osmotic properties of the erythrocyte. III. The applicability of osmotic laws to the rate of hemolysis in hypotonic solutions of non-electrolytes. Biol. Bulletin, *62*, 178.

— 1933, The simultaneous measurement of cell permeability to water and to dissolved substances. Journ. Cell. and Comp. Physiol, *2*, 427.

Kaho H., 1924, Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma. Univ. Dorpatensis Inst. Botan. Opera, Nr. 18.

— 1933, Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Schwermetallsalze. Planta, *18*, 664.

Kemmer E., 1928, Beobachtungen über die Lebensdauer isolierter Epidermen. Arch. f. exper. Zellforsch., *7*, 1.

Küster E., 1929, Pathologie der Pflanzenzelle. I. Protoplasma-Monogr., Bd. 3.

Lepeschkin W., 1909, Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe. Ber. d. d. bot. Ges., *27*, 129.

— 1924, Kolloidchemie des Protoplasmas. Monogr. a. d. Gesamtgebiet d. Physiol., Bd. 7.

Meyer H. H., 1899, Zur Theorie der Alkoholnarkose. Welche Eigenschaft der Anästhetika bedingt ihre narkotische Wirkung? Arch. f. exper. Pathol., *42*, 109.

Mond R., 1930, Weitere vergleichende Untersuchungen über Membranstruktur und Permeabilität der roten Blutkörperchen. Bemerkungen zur Frage der Traubenzuckerpermeabilität. Pflügers Arch., *224*, 161.

— und Gertz, 1929, Vergleichende Untersuchungen über Membranstruktur und Permeabilität der roten Blutkörperchen verschiedener Säugetiere. Pflügers Arch., *221*, 623.

Mond R. und Hoffmann F., 1928, Weitere Untersuchungen über die Membranstruktur der roten Blutkörperchen. Ebd., *219,* 467.

Mothes K., 1933, Der Tonoplast von *Sphaeroplea.* Planta, *21,* 486.

Overton E., 1895, Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahrsschr. d. Naturf. Ges. Zürich, *40,* 159.

— 1899, Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Ebd., *44,* 88.

— 1902, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Pflügers Arch., *92,* 115, 346.

Plowe, 1931, Membranes in the plant cell. I. und II. Protoplasma, *12,* 196, 221.

Ruhland W., 1915, Untersuchungen über die Hautdrüsen der Plumbaginaceen. Jahrb. f. wiss. Bot., *56,* 409.

— und Hoffmann C., 1925, Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis.* Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta, *1,* 1.

Scarth G. W., 1926, The influence of external osmotic pressure and of disturbance of the cell surface on the permeability of Spirogyra for acid dyes. Protoplasma, *1,* 204.

Schmidt H., 1933, Die Bestimmung der normalen Plasmadurchlässigkeit. Staatsexamensarbeit, Darmstadt.

Schönfelder S., 1930, Weitere Untersuchungen über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*, nebst kritischen Ausführungen zum Gesamtproblem der Permeabilität. Planta, *12,* 414.

Stiles W., 1924, Permeability. New Phytologists reprint, No. 13, Wheldon & Wesley, London.

Strugger S., 1931, Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. d. d. bot. Ges., *49,* 453.

— 1932, Über die Plasmolyse mit Kaliumrhodanid. Ebd., *50,* 24.

Ulrich H., 1934, Untersuchungen über die Permeation lipoidunlöslicher Nichtleiter von relativ großem Molekularvolumen in die Erythrocyten von Säugetieren. Pflügers Arch., *234,* 42.

de Vries H., Über den isotonischen Koeffizienten des Glyzerins. Botan. Zeitung, *46,* 229, 245 und Opera e periodicis coll., *II,* 484.

— 1889, Über die Permeabilität der Protoplaste für Harnstoff. Botan. Zeitung, *47,* 309, 325 und Opera e period. coll., *II,* 553.

Watzadse G., 1929, Physikalisch-chemische Untersuchungen zur Frage der Stoffverteilung zwischen Zelle und Umgebung. Pflügers Arch., *222,* 640.

Weber F., 1921, Das Fadenziehen und die Viskosität des Protoplasmas. Österr. bot. Zeitschr., *70,* 172.

— 1924, Plasmolyseform und Protoplasmaviskosität, Ebd., *73,* 261.

— 1929, Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasma, *8,* 291.

— 1931*a*, Harnstoffpermeabilität ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. Ebd., *12,* 129.

— 1931*b*, Plasmolyseresistenz und -permeabilität bei Narkose. Ebd., *14,* 179.

— 1932*a*, Plasmalemma oder Tonoplast? Ebd., *15,* 453.

— 1932*b*, Plasmolysepermeabilität bei Kälte. Ebd., *15,* 517.

— 1932*c*, Plasmolyse und »Surface precipitation reaction«. Ebd., *15,* 522.

— 1932*d*, Gallensalzwirkung und Plasmolysepermeabilität. Ebd., *17,* 102.

— 1932*e*, Resistenz der Schließzellen gegen Gallensalz-Neutralsalz. Biologia Generalis, *8,* 567.

Weixl-Hofmann H., 1930, Beiträge zur Kenntnis der Salzdurchlässigkeit des Protoplasten. Protoplasma, *11,* 210.

Wilbrandt W., 1931, Vergleichende Untersuchungen über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Anelektrolyte. Pflügers Arch., *229,* 86.